

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Departamento de Química Industrial



TESIS DOCTORAL

**Depuración de efluentes líquidos de fábricas de pasta al
sulfatos : evolución de los componentes principales**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

Juan Aguado Alonso

DIRECTOR:

Ángel Vián Ortuño

Madrid, 2015

Juan Aguado Alonso

TP
1980
141



* 5 3 0 9 8 5 4 2 1 9 *

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

X-53-041260-3

DEPURACION DE EFLUENTES LIQUIDOS DE FABRICAS
DE PASTA AL SULFATO: EVOLUCION DE LOS COMPONENTES PRINCIPALES

Departamento de Química Industrial
Facultad de Ciencias Químicas
Universidad Complutense de Madrid
1980



BIBLIOTECA

© Juan Aguado Alonso
Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 Madrid-8
Madrid, 1980
Xerox 9200 XB 480
Depósito Legal: M-37425-1980

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS**

**DEPURACION DE EFLUENTES LIQUIDOS
DE FABRICAS DE PASTA AL SULFATO:
EVOLUCION DE LOS COMPONENTES
PRINCIPALES**

**Memoria para optar al grado de
Doctor en Química Industrial**

por

JUAN AGUADO ALONSO

Madrid, 1980

El presente trabajo ha sido realizado en los laboratorios del Departamento de Química Industrial de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Complutense de Madrid, por iniciativa y bajo la dirección de su titular el Prof. Dr. D. Angel Vian Ortuño, a quien expreso mi más profundo y sincero agradecimiento.

Así mismo, deseo hacer constar mi gratitud al Prof. Dr. D. Juan José Rodríguez Jimenez por sus orientaciones y estímulo, y a todos mis compañeros del Departamento que de una u otra forma me han prestado su colaboración.

| | |
|---|----|
| I. INTRODUCCION. | 1 |
| II. JUSTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL PRESENTE TRABAJO. | 8 |
| II.1. <u>REPERCUSIONES ECOLOGICAS DE LOS VERTIDOS RESIDUALES DE LAS FABRICAS DE PASTA AL SULFATO.</u> | 9 |
| II.2. <u>NECESIDAD DE UN TRATAMIENTO EFICAZ.</u> | 11 |
| II.3. <u>BREVE DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO DE DEPURACION ANALIZA- DO.</u> | 12 |
| II.4. <u>EL OBJETO CONCRETO DE LA PRESENTE INVESTIGACION.</u> | 17 |
| III. AVANCE SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA DE LAS AGUAS ESTUDIA- DAS. | 20 |
| III.1. <u>COMPOSICION QUIMICA DE LA MADERA.</u> | 21 |
| III.1.1. COMPOSICION ELEMENTAL. | 21 |
| III.1.2. COMPONENTES FUNDAMENTALES. | 22 |
| III.2. <u>EL PROCESO DE COCCION EN LA FABRICACION DE PASTA AL SUL- FATO.</u> | 24 |
| III.2.1. PREPARACION DE LA MADERA. | 24 |
| III.2.2. COMPOSICION DE LA LEJIA DE COCCION Y CONDICIONES DE OPERACION. | 24 |
| III.2.3. REACCIONES PRINCIPALES. | 26 |
| III.2.3.2. <u>Comportamiento de la lignina.</u> | 26 |
| III.2.3.2. <u>Comportamiento de las hemicelulosas.</u> | 36 |

| | |
|---|----|
| III.2.3.3. <u>Comportamiento de la celulosa noble.</u> | 41 |
| III.3. <u>AVANCE SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA DE LAS LEJIAS NEGRAS Y DE LAS AGUAS RESIDUALES OBJETO DE ESTUDIO.</u> | 43 |
| IV. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL. | 46 |
| IV.1. <u>ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO.</u> | 47 |
| IV.2. <u>MATERIA PRIMA EXPERIMENTAL.</u> | 48 |
| IV.2.1. OBTENCION DE LAS LEJIAS NEGRAS DE PARTIDA. | 48 |
| IV.3. <u>TECNICAS EXPERIMENTALES UTILIZADAS.</u> | 56 |
| IV.3.1. SEPARACION DE FRACCIONES: CROMATOGRAFIA EN XERÓGELES. | 56 |
| IV.3.1.1. <u>Consideraciones previas.</u> | 56 |
| IV.3.1.2. <u>Parámetros utilizados.</u> | 58 |
| IV.3.1.3. <u>Definición del término Gel.</u> | 63 |
| IV.3.1.3.1. Características de un gel para cromatografía. | 65 |
| IV.3.1.3.2. Consideraciones sobre el Sephadex. | 67 |
| IV.3.1.3.3. Descripción de los geles empleados. | 69 |
| IV.3.1.4. <u>Descripción del dispositivo experimental empleado.</u> | 70 |
| IV.3.2. METODOS DE ANALISIS. | 74 |
| IV.3.2.1. <u>Espectroscopía UV e IR.</u> | 75 |
| IV.3.2.2. <u>Análisis de compuestos de azufre.</u> | 77 |

| | |
|---|-----|
| IV.3.2.2.1. Contenido total de azufre. | 77 |
| IV.3.2.2.2. Mercaptanos. | 78 |
| IV.3.2.2.2. a. <u>Ensayo de Feigl.</u> | 78 |
| IV.3.2.2.2. b. <u>Determinaciones espectrofotométricas.</u> | 79 |
| IV.3.2.2.3. Sulfuros. | 80 |
| IV.3.2.3. <u>Identificación de productos lignínicos.</u> | 82 |
| IV.3.2.3.1. Absorción de luz en la región UV. | 82 |
| IV.3.2.3.2. Índice de metoxilos. Método micro de Zeisel. | 82 |
| IV.3.2.4. <u>Contenido en sólidos.</u> | 84 |
| IV.3.2.5. <u>Conductividad y resistividad.</u> | 85 |
| IV.3.2.6. <u>Demanda Química de Oxígeno (DQO).</u> | 86 |
| IV.3.2.7. <u>Demanda Biológica de Oxígeno (DBO).</u> | 88 |
| IV.4. <u>REALIZACION PRACTICA DE LAS OPERACIONES DE COAGULACION- FLOCULACION Y ADSORCION.</u> | 90 |
| V. RESULTADOS EXPERIMENTALES. INTERPRETACION Y DISCUSION. | 92 |
| V.1. <u>COMPOSICION DE LAS AGUAS DE PARTIDA.</u> | 93 |
| V.1.1. ANALISIS DE COMPUESTOS LIGNINICOS. | 93 |
| V.1.2. ANALISIS DE PRODUCTOS SULFURADOS. | 118 |

| | |
|---|-----|
| V.1.2.1. <u>Aproximación al mecanismo de solubilización de la lignina por el proceso al sulfato.</u> | 125 |
| V.2. <u>COMPOSICION DEL EFLUENTE RESULTANTE DEL TRATAMIENTO DE COAGULACION Y FLOCULACION.</u> | 129 |
| V.3. <u>COMPOSICION DE LAS AGUAS TRAS LA ETAPA DE ADSORCION.</u> | 153 |
| V.4. <u>EVOLUCION DE LOS COMPUESTOS PRESENTES EN LAS AGUAS RESIDUALES CON EL TRATAMIENTO BIOLOGICO.</u> | 163 |
| V.4.1. <u>ESTUDIO DE LAS POSIBILIDADES DE BIODEGRADACION DE LOS COMPONENTES LIGNINICOS.</u> | 176 |
| VI. CONCLUSIONES. | 187 |
| BIBLIOGRAFIA. | 191 |

I. INTRODUCCION

I. INTRODUCCION.

El sector pastero-papelero ocupa un importante lugar dentro de la industria química, en cuanto a cifras de producción. Las estimaciones realizadas por la OCDE, para el presente año, suponen un total de mas de 200 MM de Tm para el conjunto de los países miembros (1). En España, la producción experimentó un importante auge durante la década de los sesenta, descendiendo posteriormente el índice de crecimiento; la cifra global se sitúa en la actualidad alrededor de los 3 MM de Tm/año, todavía algo inferior al consumo.

Es frecuente relacionar las actividades de la industria pastero-papelera con problemas importantes de contaminación del medio ambiente. Conviene, sin embargo, apuntar ciertas matizaciones en relación con la fuente real de tales problemas. En efecto, la incidencia, en este sentido, de las operaciones de fabricación de papeles u otros productos acabados, a partir de las pastas, resulta de mucho menos significación que la que representan los procesos de obtención de las mismas, particularmente si se trata de pastas químicas; por otra parte, el potencial contaminante de las fábricas de pastas químicas viene condicionado en buena medida por determinados factores, como son: la especie maderable empleada, el proceso utilizado, el rendimiento obtenido, la capacidad de producción y el grado de integración de la fábrica y la existencia o no de sistemas de recuperación y otras medidas de caracter interno en la misma.

En cuanto al ámbito del problema, aunque las instalaciones pasteras producen también efluentes gaseosos y residuos sólidos, la contaminación de las aguas representa, con mucho, el inconveniente principal. Al elevado consumo de este recurso cabe añadir la importante modificación de sus características como producto de los procesos de fabricación.

Entre los procedimientos de obtención de pastas químicas de celulosa, destaca, por su importancia, el proceso al sulfato, que produce una pasta con excelentes propiedades mecánicas, a la que se conoce con el nombre de pasta kraft (*). Una fábrica de pasta al sulfato consume, por término medio de 200 a 100 m³ de agua/Tm de pasta, según que disponga o no de blanqueo (2-4). Las necesidades fabriles son, en realidad, bastante superiores, pero la introducción de diversas mejoras en el proceso permiten en la actualidad recircular buena parte de las aguas utilizadas. En fábricas de nueva construcción puede rebajarse la cifra anterior hasta 80 m³/Tm, incluso con blanqueo (5). Aún en este caso, la cantidad de agua usada resulta importante; baste considerar que una fábrica de tamaño medio puede alcanzar cifras de producción de 500 Tm de pasta/día y que existen instalaciones de hasta 2000 Tm/día.

Parece, pues, de gran importancia, el tratamiento de las aguas residuales de estas fábricas. Como dato informativo puede indicarse que los costes de la lucha contra la contaminación de las aguas ocasionada por las fábricas de pasta al sulfato se prevee que alcance en EEUU la cifra de 275 MM \$ durante el año 1980 (1).

(*) En rigor, dicho nombre debe utilizarse solo cuando se emplea como materia prima madera de coníferas.

Los métodos para el tratamiento de los efluentes residuales de fábricas de pasta al sulfato, pueden clasificarse en cuatro categorías.

1) Tratamientos previos: Destinados a separar los sólidos de tamaño relativamente grande del efluente, neutralización del mismo, homogeneización de sus características, y reducción de la temperatura.

2) Tratamientos de tipo primario: Tienen por objeto reducir el contenido en sólidos en suspensión, siendo el método más utilizado la sedimentación (con o sin floculantes); si bien se emplean también las técnicas de flotación y filtración.

3) Tratamientos secundarios: Basados en la acción biológica de una serie diversa de microorganismos; tienen como finalidad principal la eliminación de la materia orgánica de naturaleza biodegradable. Su aplicación reduce en un alto grado la DBO del agua tratada.

4) Tratamientos terciarios: Se orientan a la eliminación de la materia orgánica no biodegradable, que comunica al agua DQO, color y espumabilidad entre otras características contaminantes.

Entre los tratamientos de este tipo cabe citar la eliminación parcial de los compuestos lignínicos por coagulación con sales de Fe^{3+} y Al^{3+} (6,7), polielectrolitos orgánicos (8-11), y cal (12-18), la reducción del color y la DQO por adsorción con carbón activo (19,20) o resinas sintéticas (21) y la ósmosis inversa (22), cuya limitación fundamental radica en la magnitud de los caudales a

tratar en estas industrias. No obstante, y a pesar de las investigaciones realizadas al respecto, los tratamientos terciarios son por el momento, poco utilizados a escala industrial en la depuración de aguas residuales de fábricas de pasta al sulfato.

Los sistemas de tratamiento actualmente en funcionamiento responden, en general, a las dos primeras categorías indicadas, habiendo experimentado en los últimos años un notable auge el empleo de procedimientos biológicos, cuya eficacia resulta tan solo parcial, dado el carácter basicamente no biodegradable de la materia orgánica de naturaleza lignínica, componente importante de los efluentes resultantes de algunas de las operaciones del proceso fabril.

Un interesante procedimiento es el propuesto y desarrollado por Vian y colaboradores (23-26) que consiste basicamente en el tratamiento de las aguas residuales de las fábricas de pasta al sulfato, partiendo de la consideración de las diferencias existentes entre los efluentes resultantes de las distintas operaciones que componen el proceso global de fabricación, en lo que concierne a su composición y características; se propone, como paso previo, la segregación de los vertidos líquidos en tres corrientes diferentes, a fin de dar a cada una de ellas el tratamiento mas adecuado, frente a la tendencia generalizada del tratamiento conjunto de las mismas y que constituye una de las razones fundamentales de la baja efectividad obtenida normalmente hasta ahora.

Las tres corrientes consideradas, para el caso de una fábrica de pasta cruda, son:

Corriente I:

- Aguas procedentes del parque de madera.
- Parte de las aguas de evaporación de la batería de evaporadores.

Corriente II:

- Aguas de caustificación.
- Aguas procedentes de los hidrociclones de depuración de la pasta.
- Parte de las aguas de los secaderos de pasta (las no recicladas).
- Aguas de rebose y recuperación de fibras de las máquinas secapastas.
- Aguas de lavado y refrigeración de la central térmica.

Corriente III:

- Aguas resultantes de los últimos lavados de la pasta.
- Reboses del clasificador.
- Reboses accidentales de lejías negras de la sección de evaporación.

Este esquema básico no se modifica en el caso de fábricas con blanqueo, en las que se incorporarían a la corriente III, las extracciones alcalinas resultantes de la citada operación.

La tercera de estas corrientes, Aguas III, cuyo caudal representa aproximadamente el 10% del total, presenta la misma composición cualitativa que las lejías negras resultantes del proceso de cocción de la madera, pero en concentración mucho menor, y resulta sin duda la mas difícil de tratar. Sobre ella se centra el procedimiento desarrollado por Vian y colaboradores consistente, en grandes líneas, en un tratamiento de coagulación a base de ácido seguido de adsorción con carbón activo y depuración biológica por vía aerobia, etapa, esta última, común para las tres corrientes residuales.

La finalidad del presente trabajo consiste en determinar el comportamiento y la evolución de los principales grupos de componentes responsables de las propiedades contaminantes de las Aguas III, a lo largo del tratamiento indicado, para lo que se ha estudiado la composición química y características fundamentales de las aguas en cuestión inicialmente y después de cada una de las etapas del tratamiento descrito. Se ha utilizado para ello la técnica de fraccionamiento por cromatografía de permeabilización sobre gel, seguida de un análisis sistemático de las fracciones obtenidas. Dada la importancia del tema, se ha investigado en profundidad la biodegradabilidad de los componentes básicos de las aguas objeto del trabajo, dedicándose un especial interes a los de naturaleza lignínica.

II. JUSTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO

9

9

II. JUSTIFICACION Y PLANTEAMIENTO DEL TRABAJO.

II.1. REPERCUSIONES ECOLOGICAS DE LOS VERTIDOS RESIDUALES DE FABRICAS DE PASTA AL SULFATO.

Los vertidos de las fábricas de pasta al sulfato, con o sin blanqueo posterior, modifican en mayor o menor grado, dependiendo de los caudales relativos efluente-receptor, las características de los sistemas acuáticos naturales a los que van a parar.

La naturaleza de las sustancias vertidas es mayoritariamente orgánica, y hasta cierto grado susceptible de ser degradada por los microorganismos del cauce receptor. El enriquecimiento en materia orgánica, en el punto de vertido del cauce receptor, conduce a un aumento de la masa de microorganismos, a veces con un excesivo consumo de oxígeno, invertido en la oxidación bacteriana de los compuestos orgánicos, por lo que la concentración de este disminuirá sensiblemente, pudiendo llegar a límites que dificulten o impidan las posibilidades de supervivencia de determinadas especies de la fauna acuática, pudiéndose alcanzar, en ocasiones, condiciones anaerobias con el consiguiente peligro de contaminación atmosférica en el área próxima. Por otra parte, la materia orgánica no biodegradable, cuantitativamente importante en estas aguas residuales, dará lugar a condiciones de contaminación permanente en el sistema receptor.

La situación se ve agravada, como consecuencia del color que acompaña a la materia orgánica en este tipo de vertidos que dificulta la entrada de luz, y, por lo tanto, la producción de oxígeno como resultado de la función clorofílica de las plantas verdes acuáticas. Por otra parte, el carácter tensoactivo de algunas de las sustancias presentes en estos efluentes, se traduce en la formación de espumas de cierta persistencia, que representan un obstáculo importante para la reaeración natural de las aguas.

La Tabla II.1 recoge las características medias de las aguas residuales de una fábrica de pasta al sulfato con blanqueo, consideradas en su conjunto (3).

Tabla II-1

| Composición de los vertidos líquidos de una fábrica de pasta al sulfato con blanqueo posterior. | |
|---|-----------------|
| pH | 6,5 - 9,3 |
| D.Q.O. | 600 - 900 ppm |
| D.B.O. ₅ | 300 - 500 ppm |
| Sólidos disueltos | 1500 ppm |
| Sólidos en suspensión | 500 - 550 ppm |
| Sólidos totales | 2000 - 2050 ppm |

La importancia del problema obliga a considerar a la par que los beneficios, los inconvenientes derivados de la instalación de este tipo de fábricas, tratando siempre de minimizar estos últimos, que en definitiva tienen una verdadera repercusión económica negativa, en forma de costes sociales. La adopción de las necesarias medidas anticontaminantes resulta, pues, imprescindible. Den-

tro de este planteamiento ha de buscarse, evidentemente, la alternativa capaz de solucionar el problema con el menor coste posible. En este sentido, la tecnología debe orientarse hacia:

- La modificación o sustitución de los procesos de fabricación por otros de menor o, en su caso, nulo potencial contaminante, con un aprovechamiento integral de las materias primas.
- El tratamiento adecuado de los efluentes residuales, considerando la posibilidad de recuperación de subproductos y recirculación de las aguas tratadas.

II.2. NECESIDAD DE UN TRATAMIENTO EFICAZ.

El tratamiento de las lejías negras resultantes del proceso de cocción de la madera, con recuperación de reactivos, que resulta hoy una práctica corriente en las fábricas de pasta al sulfato, constituye una de las bases fundamentales de la economía del proceso al tiempo que reduce enormemente los problemas de contaminación derivados de actividad de estas fábricas. No obstante, en estas instalaciones se producen unas aguas residuales de composición cualitativa análoga a la de las lejías en cuestión, pero con un grado de dilución unas 50 veces mayor, lo que hace económicamente inviable su tratamiento con arreglo al mismo esquema. El vertido de las mismas sin acondicionamiento previo ocasiona graves pro-

blemas ecológicos, por lo que deben depurarse convenientemente, lo que no resulta posible por métodos convencionales, dada la resistencia de los compuestos lignínicos, principales responsables de las propiedades contaminantes de estas aguas, a la degradación biológica.

Las notables diferencias existentes entre este tipo de efluentes (Aguas III en la clasificación indicada en el apartado I) y el resto de las aguas residuales que produce una fábrica de pasta al sulfato aconseja el tratamiento por separado de las mismas, previa segregación de corrientes, circunstancia ésta que contempla el procedimiento propuesto por Vian y colaboradores, frente a la tendencia generalizada del tratamiento conjunto, cuyos resultados revelan importantes limitaciones en cuanto a la eficacia obtenida.

II.3. BREVE DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO DE DEPURACION ANALIZADO.

El método de tratamiento que aquí se analiza (23-26) propone la división de los efluentes líquidos de las fábricas de pasta al sulfato en tres corrientes bien diferenciadas, atendiendo a la diferente composición, tanto cualitativa como cuantitativa, que presentan las aguas residuales resultantes de las distintas operaciones que componen el proceso global de fabricación.

Como ya se ha indicado en el apartado I, las tres co--

rrientes en cuestión, son:

Corriente I:

- Aguas que proceden del parque de madera.
- Parte de las aguas de evaporación de la batería de evaporadores.

Su caudal es aproximadamente un 20% del total.

Contienen fundamentalmente sólidos en suspensión (cortezas, astillas, tierra), fácilmente eliminables mediante tratamientos primarios de tipo físico, y cierta DBO que puede eliminarse en un tratamiento biológico, común a las tres corrientes.

Corriente II:

- Aguas de caustificación.
- Aguas procedentes de los hidrociclones de depuración de la pasta.
- Parte de las aguas de los secaderos de pasta (las no recicables).
- Aguas de rebose y recuperación de fibras de las máquinas secapastas.
- Aguas de lavado y refrigeración de la central térmica.

Su caudal es aproximadamente un 70% del total.

Son aguas turbias, por las materias en suspensión (orgánicas e inorgánicas) que contienen, y llevan además algo de grasa; requieren un tratamiento algo mas complejo, que en definitiva consiste en una coagulación a base

de flocculantes convencionales, tal como sulfato de alúmina.

Corriente III:

- Aguas resultantes de los últimos lavados de la pasta.
- Reboses del clasificador.
- Reboses accidentales de lejías negras de la sección de evaporación.

Su caudal representa el 10% del total.

Su composición es análoga a la de las lejías negras resultantes del proceso de digestión de la madera, pero su concentración es mucho menor. Fundamentalmente contienen compuestos orgánicos de naturaleza lignínica (27-32), productos de degradación de las hemicelulosas (27, 33-36) e incluso de la propia celulosa noble (27, 37) y, por supuesto, compuestos inorgánicos como NaOH, Na_2S , etc. (38-40).

La corriente III es la mas problemática desde el punto de vista de la contaminación y a ella se refiere el método propuesto por Vian y colaboradores, y cuyo análisis, desde el punto de vista químico, constituye el objeto de la presente investigación.

Estas aguas presentan una coloración marrón oscuro, valores relativamente elevados de DQO y DBO y la propiedad de formar espumas persistentes. La Tabla II.2 recoge las principales características contaminantes de esta corriente (24,25).

Tabla II.2

| Características contaminates medias de la corriente III | |
|---|-----------------|
| pH | 11 - 12 |
| Solutos orgánicos | 2000 - 4000 ppm |
| DQO | 2000 - 3800 ppm |
| DBO ₅ | 400 - 650 ppm |
| Color (a pH=12) (a) | 3000 - 30000 uc |
| C.E. (b) | 3,45 - 4,20 |
| P.E. (c) | 5 - 20 min. |

(a) Cada unidad de color corresponde a 1 mg/l de Pt⁴⁺ en la disolución patrón de Pt-Co. El valor de esta propiedad depende en alto grado de la especie maderable empleada en la cocción (24,25,41).

(b) La capacidad espumante (C.E.) calculada según la expresión $CE = (V_L - 100)/100$, donde V_L es el volumen alcanzado por la superficie libre de espuma después de burbujear un determinado caudal de aire a través de 100 ml de muestra durante 20 segundos (24,25).

(c) La persistencia de la espuma (P.E.) corresponde al tiempo que tarda en desaparecer, la misma, una vez interrumpido el paso de aire.

El tratamiento en cuestión consiste en la adición de protones en cantidad suficiente para conseguir la coagulación del coloide lignínico disuelto, principal responsable de las características contaminantes de la corriente III; un tratamiento posterior con carbón activo completa la eliminación de la materia orgánica no biodegradable, y finalmente se eliminan los compuestos biodegradables mediante tratamiento biológico aerobio común para las tres corrientes residuales indicadas.

Los límites de reducción conseguidos en la propiedades contaminantes tras las etapas de coagulación con ácido sulfúrico primero, y posterior adsorción con carbón activo en dosis de 1 g/l, se recogen en la Tabla II.3 (24,25).

Tabla II.3

Límites de reducción de las propiedades contaminantes después de los tratamientos de coagulación (1ª Etapa) y adsorción con carbón activo (2ª Etapa)

| Propiedad | Límites de reducción (%) | |
|-------------------|--------------------------|-----------|
| | 1ª Etapa | 2ª Etapa |
| Solutos orgánicos | 50,0-54,8 | 61,0-65,7 |
| DQO | 51,5-58,3 | 70,9-74,9 |
| DBO | 7,7-10,9 | 21,4-24,2 |
| Color | 80,4-85,0 | 96,0-97,0 |
| C.E. | 23,8-36,6 | 61,9-68,3 |
| P.E. | 83,5-89,1 | 95,0-96,7 |

Después del tratamiento biológico (3ª Etapa), común para las tres corrientes residuales, el efluente global presenta unas características que permiten incluso su reutilización, ya que la DQO no supera las 50 ppm, la DBO se sitúa en 20-25 ppm y el color en 25 uc; en cuanto al contenido en sales disueltas, cumple también las especificaciones requeridas.

11.4. EL OBJETO CONCRETO DE LA PRESENTE INVESTIGACION.

La finalidad del presente trabajo se centra en el estudio de los aspectos químico-científicos del método de depuración descrito con el fin de determinar la evolución de las distintas sustancias presentes en la Corriente III a lo largo de las diferentes etapas del tratamiento.

Para ello se ha estudiado la composición química de las aguas de partida y de los efluentes resultantes de cada una de las etapas de tratamiento, etapas que se han llevado a cabo en las siguientes condiciones:

1) Coagulación-floculación por adición de H_2SO_4 hasta un pH final de 3,5-4.

2) Tratamiento de adsorción con carbón activo aplicado al efluente resultante de la etapa anterior después de separados, por filtración, los flóculos formados.

En las lejías negras de partida se analiza el tipo y cantidad de compuestos lignínicos sulfurados, utilizando la técnica de espectrografía IR; en base a estos análisis se propone un mecanismo para la coacción que presenta ciertas variaciones en relación con los que recoge la bibliografía.

La evolución de los compuestos de naturaleza lignínica se investiga mediante espectrografía UV. Se analizan, así mismo

por esta técnica las fracciones resultantes de la extracción con distintos disolventes orgánicos, del residuo seco de las lejías negras y de la madera utilizada como materia prima, lo que permite tener información acerca del tipo de compuestos que en el proceso de cocción pasan del vegetal a la lejía y, como consecuencia, a la Corriente III.

En la etapa de degradación biológica se presta una especial atención al estudio de las posibilidades de eliminación por esta vía de la materia lignínica, mediante organismos adaptados.

Por otra parte, tanto las aguas iniciales como los efluentes resultantes de cada una de las etapas del tratamiento indicado se sometieron a fraccionamiento, mediante la técnica de cromatografía líquida en xerogeles que, como primera información, permite evaluar el tamaño molecular de los compuestos presentes. En las fracciones resultantes se determinaron las siguientes propiedades:

- Índice de metoxilos
- Absorbancia a 280 nm
- Residuo seco
- DQO
- Resistividad

que permiten seguir la evolución de los diferentes grupos de compuestos presentes en las aguas residuales, a lo largo del tratamiento descrito.

Como ya se ha indicado, la Corriente III presenta la misma composición cualitativa que las lejías negras procedentes

de la cocción de la madera, por lo cual se han utilizado como materia prima experimental de partida las lejías negras obtenidas en diferentes cocciones, en el laboratorio, convenientemente diluídas.

III. AVANCE SOBRE LA COMPOSICION
QUIMICA DE LAS AGUAS ESTUDIADAS

III. AVANCE SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA DE LAS AGUAS ESTUDIADAS.

III.1. COMPOSICION QUIMICA DE LA MADERA.

III.1.1. COMPOSICION ELEMENTAL.

La composición química elemental de la madera puede considerarse idéntica en las diferentes especies leñosas, así como también, dentro de un mismo árbol, en sus diversas partes, tronco y ramas. Por esta razón, se puede admitir sin error que todas las maderas contienen aproximadamente un 50% de carbono y un 6,1% de hidrógeno. Del resto, corresponde casi todo al oxígeno (43% y mas), y sólo hay una pequeña parte de nitrógeno y elementos minerales (42).

III.1.2. COMPONENTES FUNDAMENTALES DE LA MADERA.

En la madera, o parte sólida de los árboles liberada de la corteza, pueden distinguirse como componentes fundamentales: la celulosa que se presenta en un 40% a 50% según la especie, la lignina con un 24% a 28%, las hemicelulosas con un 10% a 25%, y como componentes auxiliares y muy variables las resinas, grasas y ceras, sustancias tanínicas, colorantes, alcaloides y sustancias incombustibles, que normalmente se encuentran en mayor concentración en el duramen (o corazón del leño) que en la albura (parte mas externa).

La *celulosa* es un polisacárido cuya composición química corresponde a la fórmula empírica $(C_6H_{10}O_5)_n$, estando comprendido el valor de n (grado de polimerización, G.P.) entre 1.000 y 5.000 en la celulosa aislada de la madera, si bien algunos investigadores afirman que el valor de n es superior a 10.000 (43,44). Se forma como resultado de la fotosíntesis, y es el principal componente de la pared celular de todas las maderas, pajas, pastos, fibras liberianas y pelos de semillas.

Las *hemicelulosas* son polisacáridos con un G.P. muy inferior a la celulosa, aproximadamente 150 ± 30 . Son componentes no fibrosos y presentan diferencias estructurales respecto de la celulosa. Aunque sin comprobación experimental, parece ser que al menos una parte de las hemicelulosas están unidas químicamente a la lignina.

La *lignina* es, además de la celulosa, las hemicelulosas y los taninos, el único polímero que se encuentra en la madera y

se concentra principalmente en la zona de la lamela media del tejido de xilema, es decir, en la capa intermedia del tejido situado entre fibras o células adyacentes. Su función es, principalmente, la de relleno o sustancia cementante de las fibras celulósicas para proporcionar rigidez al tejido leñoso. La estructura de la lignina es más compleja que la de la celulosa y también que la de algunas proteínas, no conociéndose aún con entera exactitud su estructura química (43 - 46) , aunque se sabe que las unidades fundamentales están formadas por un radical propilo (que puede presentar una amplia funcionalidad combinada: alcohólica, cetónica, aldehídica, olefínica, etc.) unido a grupos guayacoílo, piperonilo o siringilo.

Existen otros componentes de la madera , cuya importancia no puede medirse por las cantidades en que se presentan. Estos son los llamados *extractos* o *componentes extraños*. En realidad se han encontrado cientos de componentes extraños en maderas de diversas especies; estos incluyen hidrocarburos alifáticos y aromáticos, terpenos y sus derivados, alcoholes, aldehidos, fenoles, quinonas y muchos otros, entre los que pueden mencionarse componentes específicos de ciertas maderas, tales como aceites esenciales y fijos, ácidos resínicos y esteroides, taninos y materias colorantes, monosacáridos, polisacáridos y alcaloides fisiológicamente activos (47,48).

III.2. EL PROCESO DE COCCIÓN EN LA FABRICACION DE PASTA AL SULFATO.

III.2.1. PREPARACION DE LA MADERA.

En el proceso al sulfato pueden emplearse la mayoría de las especies de maderas, usándose mucho la madera de coníferas.

En condiciones similares de cocción, las maderas de especies frondosas necesitan menos tiempo. Así mismo, debido al porcentaje mas bajo de lignina en las maderas de especies frondosas, de su cocción se puede esperar un mayor rendimiento, a la vez que un contenido menor de lignina en la pasta.

La preparación de la madera lleva consigo las etapas de: corte, almacenamiento, descortezado, astillado y tamizado. Cada operación se realiza bajo los controles correspondientes que lleven a la consecución de una madera sana, seca, sin corteza y con el tamaño apropiado para conseguir un rendimiento máximo en la etapa de cocción, tanto en lo que a calidad y cantidad de la pasta se refiere como en el ahorro de energía y reactivos.

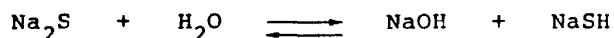
III.2.2. COMPOSICION DE LA LEJIA DE COCCIÓN Y CONDICIONES DE OPERACION.

El propósito de cocer las astillas es disolver la lig-

nina y otros componentes no celulósicos de la madera.

La lejía de cocción del proceso al sulfato consiste en una disolución de NaOH y Na₂S, existiendo también Na₂CO₃ y algo de Na₂SO₄ y Na₂SO₃.

El sulfuro sódico se hidroliza en agua para formar hidróxido sódico y bisulfuro sódico (sulfhidrato):



Esta reacción es reversible, existiendo un equilibrio entre los cuatro constituyentes de la ecuación. A medida que se va consumiendo NaOH en la cocción, la reacción se desplaza hacia la derecha para mantener el equilibrio.

Cuando el digestor se ha llenado con astillas y la cantidad apropiada de lejía, se aumenta la presión hasta conseguir la temperatura de cocción. Durante esta etapa se elimina el aire del digestor por desplazamiento con vapor, así como los gases no condensables que pudieran producirse; de no ser así, la temperatura en el digestor sería menor para una misma presión, pudiendo resultar una cocción "cruda".

La lejía penetra en las astillas, los componentes volátiles de la madera destilan y los constituyentes sólidos mas solubles comienzan a disolverse. A la presión de 3,5 a 4,2 Kg/cm² se inicia la formación de mercaptanos y sulfuros, aumentando rápidamente la deslignificación. La temperatura que se alcanza es ya

lo suficientemente alta para que la celulosa sea atacada severamente por el NaOH, pero llegado a este punto la cantidad de lejía gastada es suficiente para que la concentración de NaOH sea tan baja que la celulosa no se hidrolice.

El ataque de la celulosa es retardado por la acción reguladora del complejo sódico lignínico y por la acción reductora del sulfuro sódico. La máxima presión manométrica de cocción, que es de 7,0 a 7,2 Kg/cm², aproximadamente, se consigue en un tiempo de una a cuatro horas. En este punto se han desprendido todos los compuestos volátiles y la deslignificación comienza a decrecer (27).

III.2.3. REACCIONES PRINCIPALES.

III.2.3.1. Comportamiento de la lignina.

Como ya se ha dicho, la estructura de la lignina aún está por dilucidarse de una manera total. Varios han sido los esquemas propuestos (49 - 53) en base a las propiedades observadas en las distintas fracciones lignínicas aisladas de la madera (54). Un problema clave se ha presentado siempre que se ha querido determinar su estructura, que ha sido la diferencia existente entre ligninas aisladas por un mismo procedimiento pero tratando especies diferentes de maderas. Aún está por resolver la estructura de la protolignina y su aislamiento de la madera sin modificar la misma, así como la existencia y naturaleza química de los enlaces entre la protolignina y las hemicelulosas u otros componentes

no lignínicos (51 - 53). La denominación de protolignina, a la que se ha hecho referencia, se da a la lignina en el estado en que se encuentra en la naturaleza; el propio método de extracción ya modifica en mayor o menor grado su estructura.

Entre las propiedades que caracterizan al componente lignínico pueden citarse las siguientes:

- Se precipita de las lejías negras kraft por adición de ácidos (55-57).

- Disminuye el brillo en las pastas.

- Queda como residuo insoluble al tratar la madera con ácido sulfúrico del 72% (58).

- Presenta un máximo de absorción en el ultravioleta a 280 nanómetros (54).

- Rinde cantidades importantes de vainillina por oxidación con nitrobenzeno en medio alcalino (50).

- Calentada a reflujo con etanol y algo de ácido clorhídrico produce monómeros de Hibbert (vainillina, α -etoxipropiovanillona y vainilloil-metil cetona) (50).

- Puede suponerse que es un producto de deshidrogenación

enzimática de monómeros de fenilpropano. Basicamente está formada por polímeros de 3,5-dimetoxi-4 hidroxifenilpropano y de 4 hidroxifenilpropano junto a polímeros de guayacilpropano (50-52).

El esqueleto básico de la lignina se puede considerar formado por unidades sustituidas de fenilpropano (Figura 3.1). El agrupamiento R, conectado al carbono alfa a través de un enlace éter puede ser otra unidad de lignina, un monosacárido o mas probablemente un poliurónido. La presencia de esta molécula adyacente activa con relativa intensidad al carbono alfa, dependiendo de la naturaleza de la molécula en cuestión el grado de activación (27).

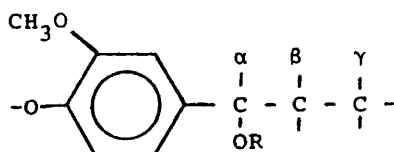


Figura 3.1. Unidad de fenilpropano

Se han señalado diferentes estructuras, por diversos autores como correspondientes a la protolignina, siendo la indicada por Adler y colaboradores (51) para coníferas y gimnospermas (Figura 3.2) la encontrada con mayor frecuencia en la bibliografía consultada.

Entre las investigaciones mas recientes orientadas a dilucidar la estructura de la protolignina se encuentran gran número de citas basadas en la estructura indicada por Forss, Fremer y Stenlund para la lignina de coníferas (53). Los autores citados

llegan a la conclusión de que en la madera deben de considerarse dos grupos de compuestos aromáticos: las hemiligninas, una mezcla de derivados de fenilpropano de bajo peso molecular constituyendo alrededor del 6% de la madera; y la lignina, un polímero de fenilpropano de alto peso molecular, ordenado, y compuesto de unidades estructurales idénticas, constituyendo aproximadamente el 23% de la madera. La unidad estructural, repetida en el polímero, dada por Forss, Fremer y Stenlund se indica en la Figura 3.3.

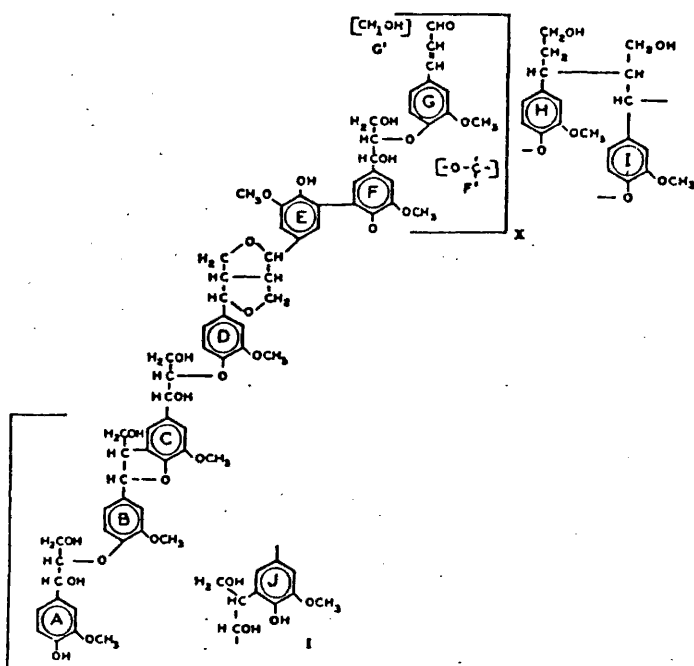


Figura 3.2. Estructura de la protolignina de coníferas o gimnospermas (según Adler y colaboradores).

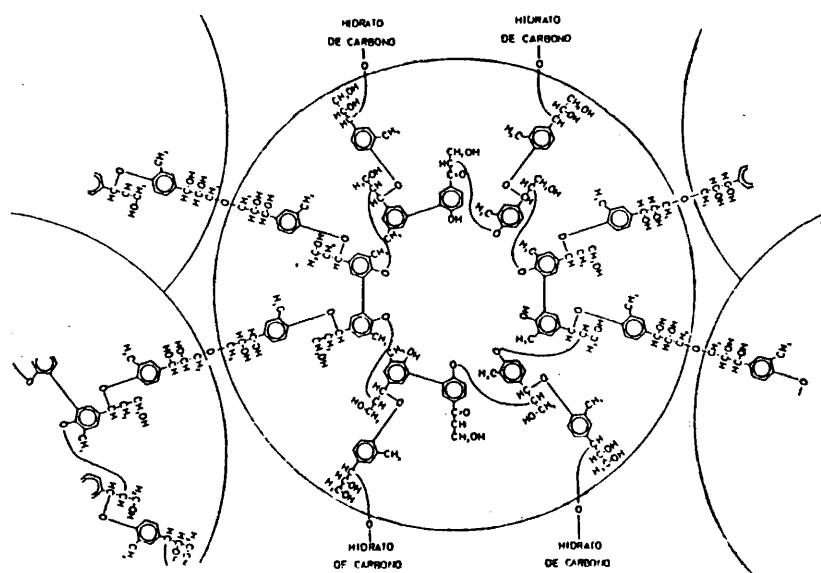


Figura 3.3. Unidad estructural de protolignina de coníferas (según Forss, Fremer y Stenlund).

Comparativamente las figuras 3.2 y 3.3 presentan apreciables diferencias; no obstante, el comportamiento de la lignina frente a diversos reactivos puede discutirse a partir de los dos modelos presentados.

Aunque no se tiene un conocimiento claro de los mecanismos de las reacciones del proceso al sulfato, la disolución de la lignina parece deberse a la ruptura de los enlaces fenol-éter, mostrados en la figura 3.1, por el hidróxido sódico. Esta ruptura con lleva una activación del carbono alfa, reforzada por la acción de la molécula adyacente, y la reacción con el bisulfuro sódico originaría la ruptura de los grupos -OR (Figura 3.4). Se cree que las unidades sencillas de fenilpropanos resultantes de la hidrólisis alcalina, reaccionan ya en disolución para formar moléculas de lignina a través de un puente carbono-carbono que une el anillo bencénico en posición orto al hidroxilo fenólico, con la cadena alifática, o con otro anillo bencénico en el carbono orto respecto al hidroxilo fenólico, de otra unidad para formar la llamada "alcali-lignina" (32,50,51) como se muestra en la Figura 3.5.

El papel del azufre en la ruptura de las macromoléculas de lignina se ha venido suponiendo que responde al mecanismo expuesto en la Figura 3.6 (24,48,49,58).

Durante la fase de calentamiento, aún a temperatura baja, los grupos -OR del carbono alfa son sustituidos por grupos mercaptanos (Figura 3.6 (a)). Los mercaptanos formados son inestables en medio alcalino, transformándose en sulfuros orgánicos, por reacción con grupos hidroxílicos de la misma u otra molécula, y en disulfuros, por reacción entre dos mercaptanos con deshidrogenación (Figura 3.6 (b)).

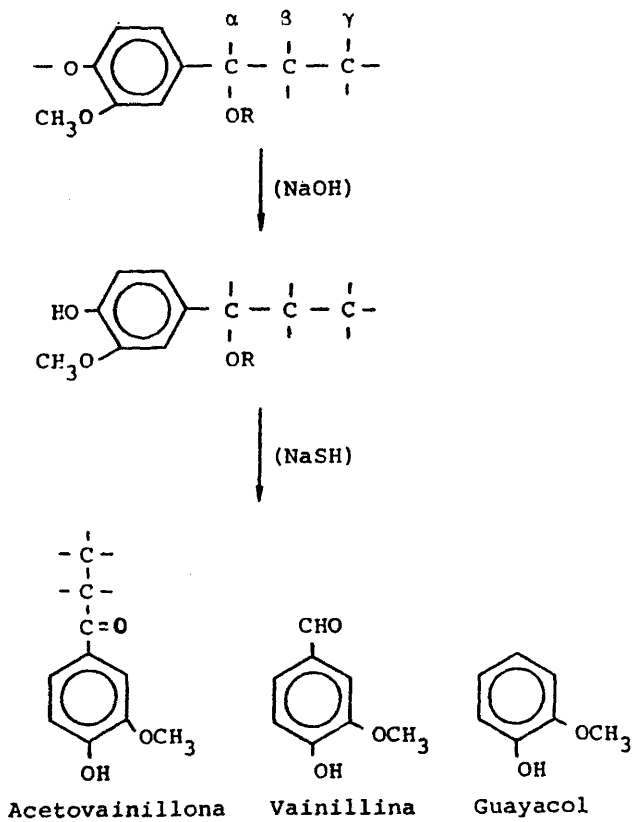


Figura 3.4. Reacciones de ruptura de la lignina en el proceso al sulfato.

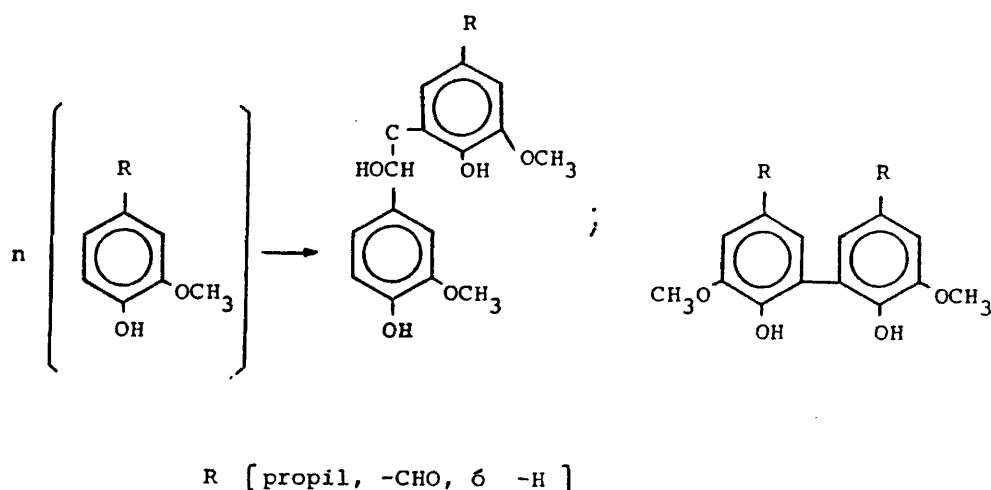


Figura 3.5. Reacciones de formación de la álcali-lignina.

Los disulfuros formados se descomponen al aumentar la temperatura (Figura 3.6 (c)) originándose nuevos mercaptanos, que evolucionarán según (b) y ácidos sulfénicos que en presencia de NaOH producen el compuesto carbonílico correspondiente (Figura 3.6 (d)).

Según el mecanismo mencionado, los compuestos de azufre lignínicos que cabría esperar en las lejías negras kraft serían: sulfuros, principalmente; ácidos sulfénicos y, en menor proporción, tioles (mercaptanos) y disulfuros.

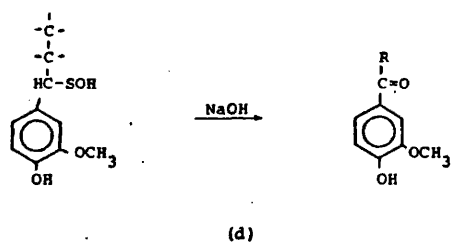
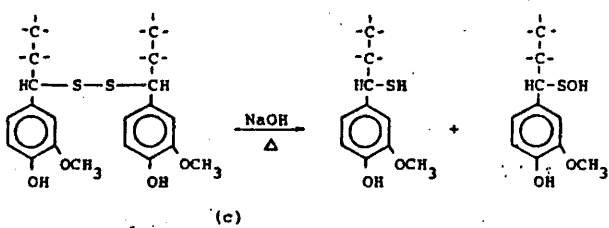
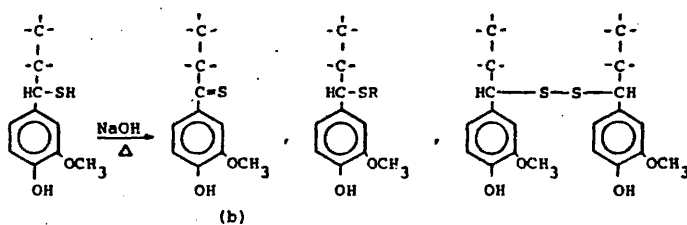
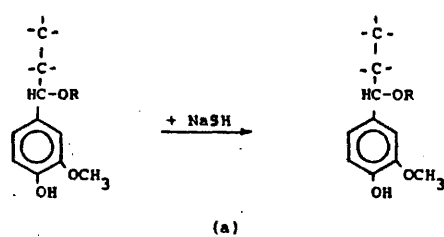


Figura 3.6. Mecanismo de disolución de la lignina por la acción del NaOH - NaSH en la cocción al sulfato.

Field y colaboradores (59) analizando el contenido en azufre orgánico de los productos de cocción al sulfato de lignina aislada de madera, según Norma Tappi 13 OS-54 (48), obtuvieron los siguientes resultados:

- El análisis elemental de las fracciones de tioligninas arrojó un contenido en azufre que variaba entre 0,92% y 1,35% del peso total de la fracción ensayada.

- Definían como azufre orgánico a aquel que en una u otra forma constituía parte integrante de los productos de degradación de la lignina, identificando como "tioligninas" a la porción de hemiligninas que tienen azufre en su fórmula.

- El azufre orgánico quedaba distribuido, en valores aproximados, de la forma siguiente:

- Un 11% con enlace químico muy débil, probablemente azufre o sal sulfónica lábiles, o adsorbido como residuo inorgánico (i.e. sulfato). No correspondiendo a la forma $S^{=}$.

- Un 13% probablemente como forma oxidada (ácidos sulfónicos, sulfonas o sulfóxidos).

- Un 52% como bencil-sulfuros y/o bencil-aril-sulfuros.

- Un 26% correspondiendo a formas oxidadas del azufre del tipo de las sulfonas.

- Una cantidad pequeñísima de azufre, caso de existir, como mercaptanos, tiocarbonilos o polisulfuros.

No obstante, los resultados de Field hacen suponer que las reacciones de formación de compuestos sulfurados podrían obedecer a otro u otros mecanismos.

III.2.3.2. Comportamiento de las hemicelulosas.

Si se libera a la madera de sus extractos y de la lignina, queda un producto fibroso llamado "holocelulosa" que representa la suma total de celulosa noble y otros polisacáridos. Estos últimos son las llamadas hemicelulosas, más o menos solubles en álcalis e hidrolizables con ácidos diluidos, por ebullición, para dar monosacáridos.

Las hemicelulosas están constituidas por cadenas de longitud variable, aunque siempre más cortas que las de celulosa, mas o menos ramificadas. El contenido de la madera en hemicelulosas está entre un 20-25% en especies coníferas y un 15-35% en especies frondosas. La existencia de ramificaciones en las cadenas de las hemicelulosas permite hacer una diferenciación en dos grupos: Las hemicelulosas de cadenas ramificadas se encuentran generalmente en estado amorfo, mientras que las de cadenas lineales o poco ramificadas tienen una cierta tendencia a organizarse de una forma más o menos cristalina. Usualmente se las distingue como hemicelulosas fácilmente hidrolizables y hemicelulosas difícilmente hidrolizables. Al primer grupo corresponden las hemicelulosas poliurónidas o poliurónidos, constituidas por cadenas de hexosas o pentosas enlazadas lateralmente a radicales hexaurónicos u otros azúcares o a ambos. Se supone que están unidas de alguna manera a la lignina, probablemente mediante enlaces glucosídicos. Su carácter amorfo y su unión con la lignina explican la facili-

dad con que se hidrolizan.

La fracción mas resistente de las hemicelulosas, conocida con el nombre de celulosanos, no contiene radicales hexaurónicos y está constituida por cadenas, mas bien cortas, de hexosanos y pentosanos relativamente simples (a base de unidades de xilosa, manosa o glucosa), ligeramente ramificadas a veces y que muestran un cierto grado de cristalinidad. Longitudinalmente ocupan espacios similares a los de anhidroglucosa en las cadenas de celulosa, y estarían realmente empaquetadas en la estructura cristalina de la celulosa. La forma en que están asociadas a la celulosa noble es diferente de como lo están los poliurónidos con la lignina, pudiéndose suponer que los celulosanos están unidos a la celulosa por fuerzas laterales covalentes. Es decir, los celulosanos parecen estar mas protegidos de la acción de los reactivos de la lejía de cocción, en parte debido a su relativa cristalinidad y, en parte, porque se encuentran localizados mas en el interior de la propia celulosa.

Los tres principales polisacáridos que constituyen las hemicelulosas son los pentosanos, los hexosanos y los ácidos urónicos.

Los pentosanos son polisacáridos de cadenas cortas, normalmente ramificadas, que por hidrólisis originan pentosas. Los dos principales pentosanos son los xilanos y los arabanos.

Las hexosas son polisacáridos de cadenas cortas que pueden contener también cadenas laterales mas cortas. Sus principales constituyentes son los mananos y, en menor escala, los galactanos y glucosanos; y, por hidrólisis, originan hexosas.

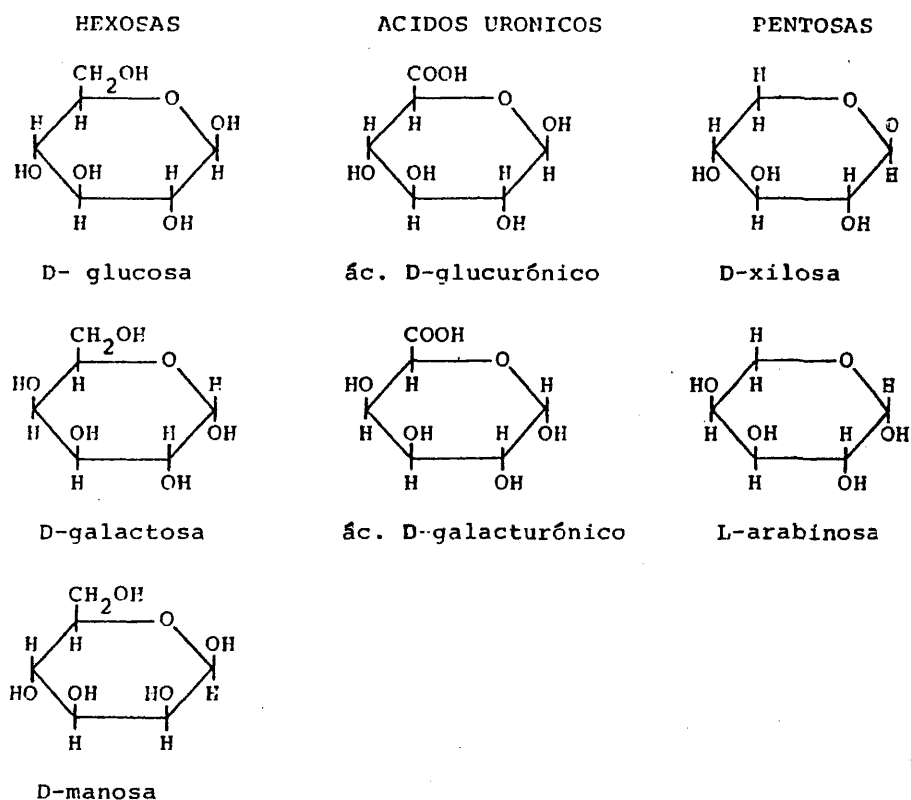


Figura 3.7. Productos de hidrólisis de hemicelulosas.

En la madera de coníferas se encuentran principalmente hexosanos (mananos) y cantidades menores de pentosanos (xilanos), mientras que la de frondosa consta principalmente de pentosanos (xilanos) y muy pequeñas cantidades de hexosanos.

La hidrólisis de las hemicelulosa origina hexosas, pentosas y ácidos urónicos. De las veinticuatro posibles aldo y ceto

hexosas, solo cuatro se han encontrado en la madera: D-glucosa, D-manosa, D-galactosa y L-galactosa, esta última muy raramente. Así mismo, solo dos pentosas se han identificado en los productos de hidrólisis de la madera: D-xilosa y L-arabinosa, y dos ácidos hexaurónicos: ácido D-glucurónico y ácido D-galacturónico (33).

En la Figura 3.7 (pagina anterior) se representan los diversos productos de hidrólisis de las hemicelulosas. Estructuralmente, parece deducirse una relación directa hexosa-ácido urónico-pentosa; se sabe que los ácidos urónicos son productos de oxidación de las hexosas, con formación intermedia de una aldohexosa. La serie correspondiente a la D-manosa está incompleta. Green (35) ha identificado el ácido α -D-isosacarínico (Figura 3.8) y es posible que se forme a partir de una degradación de las unidades de manosa, pudiéndose formar también a partir de galactosa y/o glucosa.

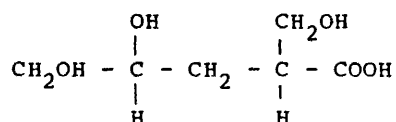
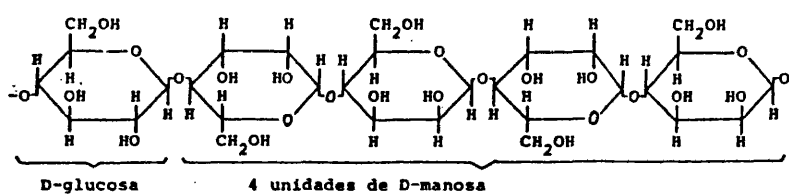
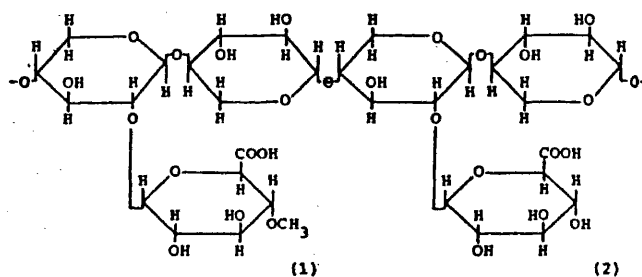


Figura 3.8. Acido α -D-isosacarínico.

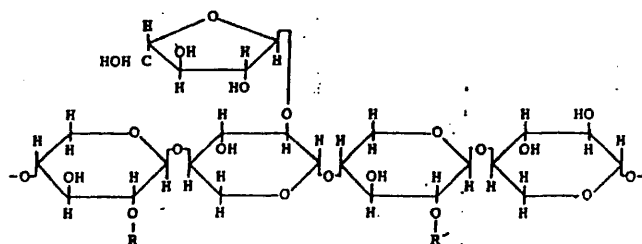
Las cadenas de hemicelulosas son, pues, asociaciones de dos o mas monosacáridos y, cuando se hidrolizan, se obtienen diferentes azúcares. Los mananos forman normalmente cadenas de unidades de D-glucosa y D-manosa, generalmente en la proporción 1:4, constituyendo el polisacárido conocido como glucomanano (Figura 3.9 (a)). Los xilanos disponen frecuentemente de ramificaciones de grupos hexaurónicos (ácido glucurónico) en el caso de maderas



a) Cadena lineal de glucomanano



b) Cadena lineal de xilano con radicales D-glucorónicos (2) y 4-O-m-glucorónico (1).



c) Cadena lineal de xilano con un radical de L-arabofuranosa y radicales R y R' (hexaurónicos).

Figura 3.9. Ejemplos de cadenas de hemicelulosas.

de especies frondosas y de grupos hexaurónicos y arabinosa en el caso de coníferas, respectivamente, formándose los polisacáridos llamados 4-O-metil-glucorono-xilano y 4-O-metil-glucorono-araboxilano (Figura 3.9 (b) y (c)).

En el proceso al sulfato los 4-O-metil-glucoronoxilanos (maderas de frondosas) pierden las unidades de ácido urónico; esta pérdida puede ir acompañada o no de la de algunas unidades de xilosa; los xilanos resultantes, menos solubles, quedan en la pasta, aunque si su tamaño es pequeño pueden pasar a la lejía. Los 4-O-metil-glucoronoaraboxilanos (maderas de coníferas) también originan ácidos urónicos y cadenas de araboxilanos durante la cocción al sulfato.

La hidrólisis alcalina afecta, pues, a los enlaces glicosídicos de los ácidos urónicos, pero no a los enlaces entre las unidades de xilosa o arabinosa de las cadenas de pentosanos (34).

III.2.3.3. Comportamiento de la celulosa noble.

Como ya se sabe, la celulosa es el principal constituyente de la madera, donde se encuentra en las paredes celulares. La celulosa es un polímero lineal de la celobiosa, un disacárido a base de glucosa con unión glicosídica beta (45,46). Su estructura corresponde a la expuesta en la Figura 3.10. La fórmula dada en la sección entre paréntesis puede considerarse celobiosa menos una molécula de agua.

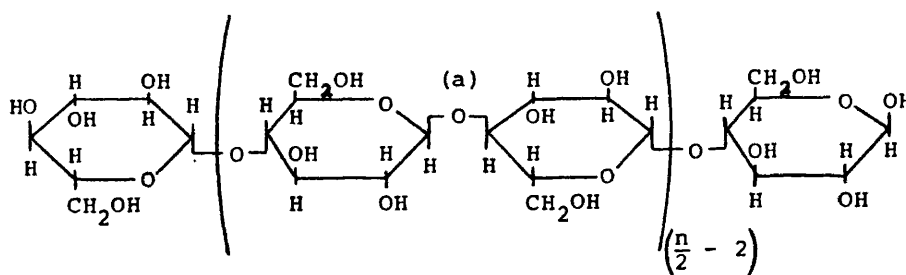


Figura 3.10. Celulosa. (a) enlace β -glicosídico.

La hidrólisis de las cadenas de celulosa requieren la presencia de oxidantes y un medio bastante ácido, viniendo determinada su extensión por la temperatura del sistema durante la misma. En el proceso al sulfato donde se conjugan la acción reductora del sulfuro y la alta alcalinidad que confiere la sosa a la lejía de cocción, parece lógico pensar que no se produce degradación de la celulosa, o al menos esta no ocurrirá en cantidad apreciable.

En la cocción, la celulosa residual de la pasta sufre una progresiva despolimerización durante el curso de la digestión y posteriores etapas de blanqueo. El grado de polimerización (G. P.) se determina midiendo la viscosidad de la celulosa después de disolverla, a una concentración de 0,5%, en solución de cuprietilendiamina (60,61). Normalmente la digestión al sulfato debe de interrumpirse antes de que el G.P. disminuya por debajo de 1.500 unidades de glucosa, correspondiendo a una viscosidad de 30 c.p.. Por debajo de estos valores la resistencia de la pasta decae gradualmente con la disminución del G.P..

III.3. AVANCE SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA DE LAS LEJIAS NEGRAS Y DE LAS AGUAS RESIDUALES OBTENIDO DE ESTUDIO.

Como ya se indic6, la composici6n cualitativa de las aguas objeto de estudio en el presente trabajo, es id6ntica a la de las lejías negras resultantes del proceso de cocci6n de la madera por el m6todo al sulfato, pero su concentraci6n es muy inferior a la de 6stas.

La composici6n de dichas lejías variar6, desde luego, con la materia prima utilizada y las condiciones de operaci6n empleadas. No obstante, al menos desde un punto de vista cualitativo, puede apuntarse en primera aproximaci6n la presencia en las lejías de determinados compuestos o grupos de compuestos resultantes de las reacciones que los componentes fundamentales de la madera sufren durante el proceso de cocci6n. Gran parte de dichos compuestos han sido identificados en las lejías negras (31,45,47,52,53,62).

La celulosa noble permanece pr6cticamente insoluble durante la cocci6n. Puede producir en su hidr6lisis: celotriosa, cellobiosa, y glucosa.

En cuanto a las hemicelulosas, dado que son solubles en 6lcalis, pasar6n en gran parte a la lejía, pudiendo hidrolizarse a:

- 1°. Monosacáridos: glucosa, galactosa, arabinosa, ramnosa, xilosa y manosa.
- 2°. Ácidos urónicos: ácido D-glucurónico, ácido D-galacturónico, ácido 4-O-m-glucurónico, que más tarde se degradan convirtiéndose en las sales sódicas de los diferentes ácidos sacarínicos.
- 3°. Ácidos de bajo peso molecular: fórmico, acético, glicólico, oxálico, propiónico, láctico, n-butírico, n-valeriánico, levulínico y α -isosacarínico.
- 4°. Disacáridos y ácidos aldobiurónicos. Estos últimos son disacáridos modificados con un grupo ácido urónico unido a una unidad de monosacárido (un ácido aldobiurónico típico es el 2- α -(4-O-m-glucoronosil)- α -D-xilosa, Figura 3.11).
- 5°. Polisacáridos: arabogalactanos y galactoglucomananos.

Los extractos, si no se han separado de la madera con anterioridad a la cocción, generalmente pasan a la lejía en su totalidad; cabe citar entre los más importantes:

- a) Pinosilvina y metoxipinosilvina: Son extractos constituyentes de la madera de coníferas; especialmente se encuentran en las distintas variedades de pino.
- b) Aceite de bogol. Al concentrar las lejías a vacío, se producen "espumaduras" o "jabón al sulfato" que se separan como reboses. Se diluyen en agua caliente, se precipitan y se tratan con ácido sulfúrico diluido, separándose el aceite de bogol especialmente rico en áci

dos oléico, linoléico, y abiético, y β -sitosterol.

- c) Aguarrás al sulfato. Se beneficia en los gases de alivio del digestor; contiene principalmente: α -pineno y β -pineno.

Por su parte el polímero lignínico se solubiliza por la acción del álcali y sulfuro sódico. El mecanismo mas probable de esta solubilización ha quedado expuesto en la sección III.2.3.1, obteniéndose cantidades grandes de hemiligninas (polímeros de unidades de fenilpropano con G.P. todavía relativamente alto) además de otros compuestos mas sencillos ("lignanós") como: vainillina, siringaldehído, ácido vainillílico, ácidos siringílico, ácido ferúlico, ácido p-hidroxibenzoico, ácido p-cumárico, acetosiringona, acetovainillona, propiovainillona, fenol, pirocatecol, siringol, guayacol, p-etilguayacol, etilsiringol, vainillilguayacol; junto a compuestos sulfurados (tioligninas y tiolignanós): sulfuros, sulfóxidos y sulfonas, derivados de los compuestos anteriormente citados; así como compuestos volátiles que se recogen en el aguarrás, tales como metanol, metilmercaptano y dimetilsulfuro.

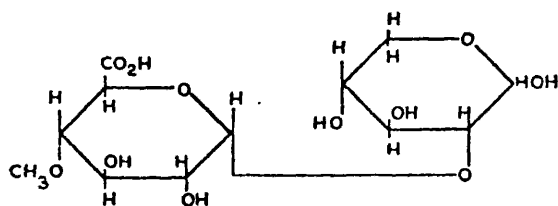


Figura 3.11. Acido 2- α -(4-O-m-glucoronosil)- α -D-xilosa.

46

IV. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL

IV. PLANTEAMIENTO EXPERIMENTAL.

IV.1. ESQUEMA GENERAL DE TRABAJO.

El esquema de trabajo desarrollado en la presente investigación puede resumirse en los siguientes puntos:

1°) Análisis de compuestos o grupos de compuestos presentes en las lejías negras procedentes de la cocción de la madera para la obtención de pasta al sulfato, utilizando para ello de terminaciones cualitativas y cuantitativas específicas y espectro_fotometría infrarroja. En base a los resultados obtenidos, se incluye una discusión del mecanismo de disolución de la lignina durante la cocción.

2°) Investigación de la evolución de los componentes de las aguas residuales a lo largo del tratamiento estudiado (23,24) de coagulación y floculación de la fracción lignínica, adsorción posterior con carbón activo y degradación biológica. La técnica utilizada como método de separación de fracciones a tal efecto ha sido la cromatografía líquida en xerogeles, empleando la espectro_fotometría UV y determinaciones cualitativas y cuantitativas específicas para el análisis de las mismas.

3°) Estudio de la biodegradabilidad de los distintos componentes inicialmente presentes en la lejía negra resultante de la cocción de la madera por el procedimiento al sulfato, prestandose especial atención a la fracción lignínica a la que se venía caracterizando como "no biodegradable".

IV.2. MATERIA PRIMA EXPERIMENTAL.

Como anteriormente se ha indicado, las aguas residuales objeto del tratamiento propuesto tienen la misma composición que las lejías negras resultantes de la cocción de la madera por el procedimiento al sulfato, pero con una concentración bastante menor.

Por dilución de las lejías concentradas pueden, por tan to, prepararse las aguas residuales.

IV.2.1. OBTENCION DE LAS LEJIAS NEGRAS DE PARTIDA.

Las lejías negras de partida se obtuvieron por cocción de astillas de madera con disolución de NaOH y Na_2S en un reactor a presión, de forma cilíndrica, con fondos embutidos, embridado y con capacidad aproximada para dos litros, construido de acero inoxidable 18/8 (chapa de 3 mm de espesor). El reactor lleva acoplado un manómetro de acero inoxidable para medida de la presión y una válvula, que puede accionarse manualmente, para purgar el aire. Para medir la temperatura dispone de una vaina donde puede alojarse un termómetro y, para reducir las pérdidas de calor, se revistió la pared exterior del reactor con cinta de amianto.

En la Figura 4.1 se detallan las medidas del reactor.

Las condiciones de cocción empleadas (idénticas en todos los casos), y que se pueden considerar muy próximas a las utilizadas por una fábrica que obtenga pastas de buena calidad por el método al sulfato, se expresan en la Tabla IV.1.

La madera empleada corresponde en todos los casos a la especie "Eucalyptus Globulus", con un contenido medio de humedad al ambiente del 9,3%.

Además de las lejías obtenidas en el laboratorio, se utilizó otra de procedencia industrial, resultante de una cocción realizada en la Empresa Nacional de Celulosas S.A. con madera de la especie E. Globulus, un hidromódulo de 3,5:1, tiempo de subida de 90 minutos y reposo de 45 minutos y el resto de las condicio-

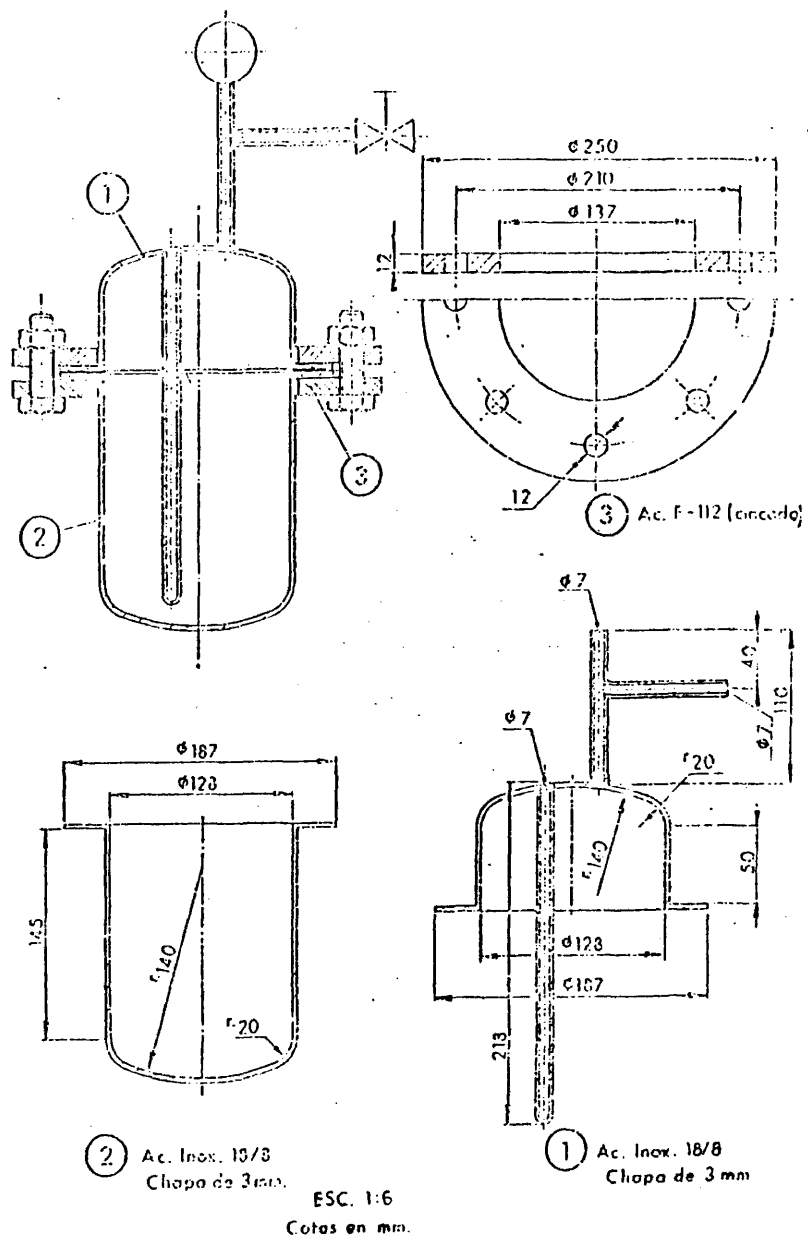


Figura 4.1. Peactor de cocción.

nes de cocción similares a las expuestas en la Tabla IV.1.

Tabla IV.1. CONDICIONES DE COCCION EMPLEADAS

| | |
|-------------------|---|
| Lejía de cocción | Disolución acuosa de NaOH (66 g/l) y Na ₂ S (22 g/l) |
| Alcali activo (a) | 68,6 g/l |
| Sulfidez (b) | 25,5 % |
| Hidromódulo (c) | 5 : 1 |
| Temperatura | 166 - 170 °C |
| Presión | 7,0 - 7,2 Kg/cm ² |
| Tiempo de cocción | 3 hr. (45 min. de subida y 2h. 15 min. de reposo) |

(a) Alcali activo = Na₂S + NaOH; ambos como Na₂O (g/l)

(b) Sulfidez = $\frac{\text{Na}_2\text{S}}{\text{Na}_2\text{S} + \text{NaOH}} \cdot 100$; Na₂S y NaOH como Na₂O

(c) Hidromódulo = (Kgs. lejía de cocción)/(Kgs. madera seca)

=====

Las características determinadas en las pastas y en las lejías negras obtenidas en las cocciones de laboratorio, se muestran en la Tabla IV.2 y se comparan con las correspondiente a la suministrada por E.N.C.E..

Tabla IV.2. CARACTERISTICAS DE LAS PASTAS Y DE LAS LEJIAS NEGRAS RESULTANTES DE LA COCCIONES REALIZADAS.

| | Laboratorio | ENCE |
|-----------------------------|-------------|-------|
| Pasta | | |
| Relación p. seca/madera(%) | 40,0-43,8 | 46,1 |
| Relación p.seca/mad.seca(%) | 44,1-48,5 | 55,7 |
| Indice kappa (a) | 18,0-18,3 | 18,4 |
| Lejía negra residual | | |
| pH | 12,6-13,7 | 13,1 |
| Sólidos totales (g/l) (b) | 120,0-145,0 | 123,0 |
| Sólidos fijos (g/l) (c) | 33,5-50,0 | 38,0 |
| Sólidos volátiles (g/l) (c) | 75,0-106,5 | 86,3 |

(a) Indice kappa: número de ml. de disolución 0,1 N de permanganato potásico consumidos por un gramo de pasta al seco absoluto. Su valor representa la aptitud al blanqueo o el grado de deslignificación de las pastas para papel (65).

(b) Sólidos totales: su determinación se realiza evaporando hasta pesada constante una cantidad determinada de lejía negra en estufa a $105^{\circ}\text{C} \pm 1$.

(c) Sólidos fijos y volátiles: Se determinan en la misma muestra donde se determinaron los sólidos totales, calcinando el residuo seco en una mufla a 600°C hasta pesada constante. La cantidad residual (sólidos fijos) es orientativa de la cantidad de solutos inorgánicos, y la diferencia entre sólidos totales y fijos (sólidos volátiles) de la materia orgánica.

La lejía negra, separada de la pasta, se diluyó con agua hasta un contenido en sólidos disueltos dentro del intervalo propio de las aguas objeto de estudio.

Finalmente, se realizó una cocción de madera enriquecida en sus componentes lignínicos, preparada por extracciones sucesivas de astillas de E. Globulus con alcohol de 95°, alcohol-benceno, agua y posterior ataque con ácido sulfúrico del 72%, eliminándose con ello de la madera los componentes tanínicos, grasas, ceras, azúcares, sustancias hidrosolubles, y parte de la fracción celulósica (55).

Tabla IV.3. RESULTADOS DE LA EXTRACCION

| Madera: especie "Eucalytus Globulus" | | |
|--------------------------------------|-----------------|----------------------------|
| Humedad 9,23 % | | |
| Componentes (sobre base seca). | Madera seca (%) | Madera rica en ligninas(%) |
| Taninos | 8,07 | --- |
| Resinas y ceras | 0,79 | --- |
| Hidrosolubles | 4,89 | --- |
| Holocelulosa (*) | 62,98 | 66,84 |
| Lignina | 20,88 | 33,16 |
| Pérdidas | 2,39 | --- |

(*) La holocelulosa corresponde al conjunto celulosa-hemicelulosas (generalmente se encuentran en la relación 2:1) que se eliminan conjuntamente al tratar la madera con ácido en concentración elevada.

=====

Las condiciones de esta cocción fueron idénticas a las indicadas en la Tabla IV.1, a excepción del hidromódulo que en esta ocasión fué de 7:1. Las características de la pasta y lejía negra resultantes de la cocción quedan recogidas en la Tabla IV.4 donde pueden observarse las apreciables diferencias con respecto a las expuestas en la Tabla IV.2. El lavado de la pasta obtenida presentó en este caso grandes dificultades debidas a la presencia de una capa oscura impermeable que envolvía a las fibras, y que resultaba insoluble en disoluciones concentradas de álcali, producto de polimerización del tipo "baquelita" formado a partir de la lignina separada durante la cocción de modo similar a como ocurre en las cocciones que se llevan a cabo con NaOH únicamente.

Tabla IV.4. RESULTADOS DE LA COCCION DE MADERA ENRIQUECIDA EN LIGNINA

| | |
|-------------------------------------|-------|
| Pasta | |
| Relación pasta seca/muestra seca(%) | 33,36 |
| Indice kappa | 67,10 |
| Lejía negra residual | |
| pH | 12,4 |
| sólidos totales (g/l) | 87,8 |
| sólidos fijos (g/l) | 52,5 |
| sólidos volátiles (g/l) | 35,3 |

Durante la cocción con NaOH se produce la formación de un doble enlace, por deshidratación, entre los átomos de carbono 1 y 2 de las cadenas propílicas unidas a los anillos bencénicos y una ruptura posterior entre los átomos de carbono 2 y 3, dando lugar a la formación de formaldehído, que condensa rápidamente con los fenoles en solución alcalina (58,64).

Tabla IV.5

| CARACTERISTICAS DE LAS LEJIAS NEGRAS ESTUDIADAS EN EL PRESENTE TRABAJO | | | | |
|---|------|---------------|-------|-----------|
| | pH | Sólidos (g/l) | | |
| | | totales | fijos | volátiles |
| LN-01 | 13,3 | 130,0 | 33,5 | 96,5 |
| LN-02 | 12,7 | 139,5 | 49,0 | 90,5 |
| LN-03 | 13,2 | 133,5 | 50,0 | 83,5 |
| LN-04 | 12,6 | 141,0 | 50,3 | 90,7 |
| LN-05 | 13,6 | 131,5 | 34,1 | 97,4 |
| LN-06 | 13,7 | 144,5 | 45,2 | 99,3 |
| LN-07 | 13,7 | 145,0 | 45,1 | 99,9 |
| LNI | 13,1 | 123,0 | 38,0 | 85,0 |
| LN-EL | 12,4 | 87,8 | 52,5 | 35,3 |

La Tabla IV.5 recoge las características de cada una de las lejías negras estudiadas, identificándose las mismas con la siguiente simbología:

LN, para las obtenidas en las cocciones realizadas en el laboratorio, seguidas de guarismos indicativos del orden en que las mismas se fueron obteniendo.

LN1, para la procedente de procesos industriales de la Empresa Nacional de Celulosa S.A. (ENCE).

LN-EL, para la lejía resultante de la cocción de madera enriquecida en componentes lignínicos.

IV.3. TECNICAS EXPERIMENTALES UTILIZADAS.

IV.3.1. SEPARACION DE FRACCIONES: CROMATOGRAFIA EN XEROGELÉS.

IV.3.1.1. Consideraciones previas.

Existen varias clasificaciones de los métodos cromatográficos, fundamental mente de acuerdo con los siguientes principios:

1 - Naturaleza de los procesos responsables de la separación de los componentes de una mezcla.

- 2 - Estado de agregación de las fases.
- 3 - Técnica analítica.

De acuerdo con la naturaleza de las interacciones entre los componentes de la mezcla y la fase estacionaria, la clasificación de los distintos tipos de cromatografía es:

1 - Cromatografía de adsorción. La separación de los componentes se basa en las diferentes capacidades para retenerse en un adsorbente con gran superficie activa.

2 - Cromatografía de partición. Los componentes se separan según los distintos coeficientes de partición entre la fase móvil y el líquido que constituye la fase estacionaria sobre un soporte sólido e inerte.

3 - Cromatografía de cambio iónico. La separación de los componentes se basa en la capacidad de adsorber iones de determinadas sustancias con otros susceptibles de ser intercambiados.

4 - Cromatografía de quimiadsorción. Basada en las reacciones químicas que tienen lugar entre los componentes de la mezcla y la fase estacionaria.

5 - Filtración molecular. La separación está basada en las diferentes permeabilidades de la fase estacionaria, debido a su porosidad, respecto a moléculas de diferentes tamaños.

La clasificación de los métodos cromatográficos es, en cierto punto, arbitraria; ya que en muchos casos la separación de los componentes se debe simultáneamente a mas de un efecto (65-67).

Todos los sistemas citados parten de idénticos principios y el desarrollo de los mismos es en esencia similar. La muestra en disolución se coloca al comienzo del "lecho" donde se va a producir la separación de sus componentes, que se lleva a cabo por adición de disolventes; a esta operación se la denomina "desarrollo cromatográfico". El conjunto de zonas forma lo que se denomina un "cromatograma". El disolvente que produce el arrastre se llama "eluyente" (si es líquido) o "portador" (si es un gas).

Mediante el desarrollo en columna pueden realizarse separaciones por partición, adsorción, filtración sobre gel y cambio iónico; ofreciendo unas amplias posibilidades que permiten conseguir unas separaciones mas nítidas entre los componentes de una muestra al ser posible utilizar varios tamaños de columnas, el acoplamiento de las mismas en serie y/o paralelo (67), la posibilidad de reciclar el eluyente libre de las sustancias de la muestra, llevar a cabo la elución con flujo descendente, ascendente o combinaciones de los mismos (68,69), la posibilidad de utilizar un elevado número de eluyentes (70,71), y formación de gradientes lineales y no lineales de las proporciones de mezclado con los eluyentes (72), todo ello con diferentes tipos de lechos, pudiendo realizar los desarrollos a diferentes temperaturas en régimen isotérmico y variable, y con temperatura uniforme o variable a lo largo de la columna (62,73-75).

IV.3.1.2. Parámetros utilizados.

Para caracterizar el comportamiento de un soluto se mide su volumen de elución, V_e , usándose diversos criterios según muestra la Figura 4.2 para el caso de muestras muy pequeñas (a),

para muestras con volumen no despreciable (b) frente a V_e , y para el caso de muestras muy grandes (c).

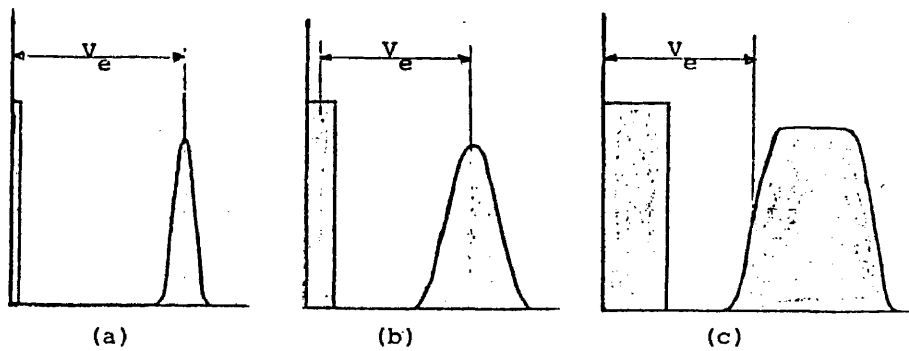


Figura 4.2. Criterios de elección del V_e .

El significado de los diferentes parámetros es:

V_o = volumen vacío (entre los granos de gel).

V_t = volumen total del lecho.

V_x = volumen del relleno, $V_x = V_t - V_o$.

V_i = volumen interno (líquido en la fase gel)

$$V_i = V_x - m_g V_g, \text{ siendo: } m_g = \text{masa del gel}$$

$$V_g = \text{volumen específico del gel}$$

$W_r = \text{cm}^3$ de líquido absorbido/gr. de lecho seco.

$$W_r = V_i / m_g$$

V_e = volumen de elución.

T_v = volumen total en que ocurre la elución de una sustancia.

V_s = volumen de la fase estacionaria (según el caso puede considerarse V_i o bien V_x).

V_e / V_o = volumen de elución relativo.

R = constante de retención ($R = V_e / V_o$)

R varía con el empacado de la columna y con la presión de operación al variar V_o . Para el caso de geles hinchados con agua suele tomarse la relación V_e / V_t .

$V_e = V_o + kV_s$, es la ecuación fundamental en cromatografía de partición. En cromatografía de filtración sobre gel se usan dos coeficientes, ambos independientes de la compacidad del lecho:

$$k_{av} = \frac{v_e - v_o}{v_x} \quad \text{si se considera } v_s = v_x \text{ (toda la fase gel)}.$$

$$k_d = \frac{v_e - v_o}{v_i} \quad \text{si } v_s = v_i \text{ (solo el líquido del gel)}.$$

Factor de capacidad. Se define como la utilización efectiva de la fase estacionaria. Será mayor cuanto mas se separen los picos y menor el tiempo de residencia.

$$k' = \frac{v_e - v_o}{v_o}$$

Selectividad. Se define como la separación entre picos.

$$\alpha = \frac{v_{e2} - v_o}{v_{e1} - v_o}$$

Eficiencia. Viene determinada por la anchura del pico. Se suele expresar por el número de platos teóricos, N.

$$N = \left(\frac{v_e}{\sigma} \right)^2 = 16 \left(\frac{v_e}{T_v} \right)^2$$

siendo: T_v = anchura del pico

σ = desviación típica del pico

$$T_v = 4\sigma$$

Resolución. Es la relación entre separación de picos y anchura de estos.

$$R = \frac{V_{e2} - V_{e1}}{\frac{T_{v2} + T_{v1}}{2}}$$

La relación entre todos los factores es:

$$R = \frac{1}{4} \sqrt{N} \left(\frac{\alpha - 1}{\alpha} \right) \frac{k'}{k' + 1}$$

siendo: k' = factor de capacidad

α = selectividad

N = eficiencia

R = resolución

En la figura 4.3 se señalan las variables referidas.

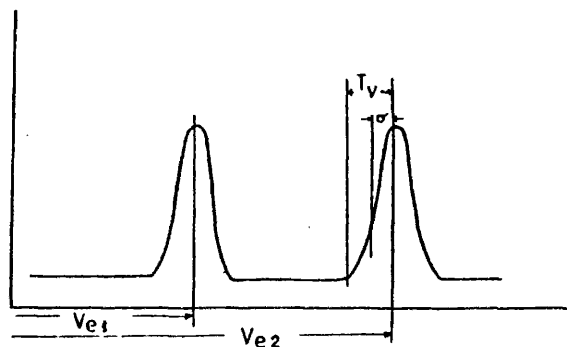


Figura 4.3. Criterios de definición de picos en cromatografía.

IV.3.1.3. Definición del término gel.

El término gel, se refiere a un material suave y elástico que contiene un fluido, en general se entiende que agua. Técnicamente adquiere un sentido mas amplio: un gel consiste en una estructura o red tridimensional, formada usualmente por polímeros encadenados en cruz, lo que proporciona cierta estabilidad mecánica y donde el espacio de la red que no está relleno con material estructural, está ocupado por un fluido.

En contraposición a la suavidad y deformabilidad bajo la acción de fuerzas externas, que comúnmente se asocia al término gel, existen geles rígidos e incluso frágiles.

La clasificación de los geles es diversa, y depende principalmente del tipo de propiedad que se emplee para definirlos; así, según la reacción que experimentan al serles extraído el líquido que contienen se clasifican en:

- Xerogeles: encogen al secarse, tomando la forma de un material compacto.
- Aerogeles: no encogen, ya que penetra en su estructura el aire que lo rodea.

Cuando se pone un xerogel seco en contacto con un líquido compatible con la matriz del gel, absorbe dicho líquido y se ensancha hasta adoptar el estado de gel. En los aerogeles, el

aire interno puede ser sustituido por un líquido, cuando se expone el gel seco a dicho líquido. Todos los geles no vuelven a su estado original en este proceso y muchos cambian sus propiedades al secar y ser remojados.

Desde el punto de vista de sus propiedades cromatográficas, y también de sus propiedades generales, se pueden distinguir dos tipos diferentes:

- Macrorreticulares
- Microrreticulares

Los macrorreticulares, tienen propiedades que indican que su estructura es bastante heterogenea, con zonas donde el material de la matriz está congregado y otras donde la presencia de matriz es escasa. Esta estructura con grandes espacios libres, permite la entrada de macromoléculas. Las regiones de gran densidad de matriz, forman un "esqueleto" que estabiliza el gel, lo hace rígido.

Los geles microrreticulares, tienen distribuida la matriz uniformemente, fraccionan sustancias de pesos moleculares inferiores que los macrorreticulares y son normalmente más suaves.

Los macrorreticulares son normalmente aerogeles, mientras que los microrreticulares en general, son xerogeles.

IV.3.1.3.1. Características de un gel para cromatografía.

De los muchos geles que existen o que pudieran ser sintetizados, relativamente pocos sirven para la cromatografía de gel. Aparte de los requisitos puramente cromatográficos, también hay que tener en cuenta algunos prácticos.

a) La matriz del gel tiene que ser inerte.

Las interacciones químicas entre el material del lecho y los disolventes pueden ocasionar una unión irreversible entre ambos o, también, producir alteraciones en sustancias inestables (76,77).

Pueden darse, entre el disolvente y la matriz, interacciones flojas y reversibles que dan volúmenes de retención más grandes de lo esperado de acuerdo con el tamaño molecular de la sustancia. En algunas circunstancias estas interacciones pueden mejorar la separación de sustancias normalmente difíciles de separar (78,79).

b) Los geles tienen que ser estables.

Los geles que se usan suelen ser estables durante largos periodos de tiempo, que pueden llegar a ser años. Igualmente deben serlo para un amplio margen de valores de pH y temperatura, para poder ser empleados en las condiciones óptimas.

La pérdida de material del lecho debe ser prácticamente nula, para no contaminar las sustancias cromatografiadas.

c) Bajo contenido en grupos iónicos.

Esta propiedad es requerida para evitar el efecto de intercambio iónico entre el material cromatográfico y el lecho.

d) Control perfecto del tamaño de partícula.

Tanto el tamaño de partícula, como la distribución del mismo deben ser controlados minuciosamente para obtener un lecho con partículas de pequeño tamaño. La razón estriba en que la difusión a la entrada y la salida de partículas grandes es mas lenta, y la resistencia del fluido en un lecho de partículas grandes es mnpr, siendo mayor el flujo máximo que se puede obtener.

e) La rigidez mecánica de los grumos de gel debe ser lo más alta posible.

Esta condición proviene de la necesidad de que no se formen por las fuerzas desarrolladas por el fluido cuando pase a través del lecho, lo que ocasionará una compactación, que puede ser reversible o irreversible, incrementandose así la resistencia al paso del fluido. Este problema limitará en muchos casos que, o cuales fluidos podrán ser usados (78).

IV.3.1.3.2. Consideraciones sobre el Sephadex.

La cromatografía de gel en medio acuoso fué desarrollada por Flodin y Porath (79,80) en los años 1958-60, siendo su principal característica la de separar sustancias según su tamaño molecular. En los últimos años ha venido usándose ampliamente debido a que ofrece la ventaja de poder cromatografiar sustancias lábiles sin descomposición de las mismas y de ser aplicada a muestras muy concentradas por la linealidad de sus isothermas de partición (77,81).

Los geles de Sephadex están constituidos por polímeros de dextrano, obtenidos por fermentación de la sacarosa. Absorben gran variedad de disolventes, "hinchándose"; siendo reversibles. Son estables en medio ácido y alcalino y térmicamente estables hasta los 120°C. Por su naturaleza orgánica son degradables por agentes oxidantes, bacterias y hongos (82). Por adición de grupos iónicos se obtienen geles cambiadores iónicos. Modificando su estructura (hidroxipropil derivados) se obtienen geles lipofílicos, hinchables en disolventes hidrófobos.

La existencia de interacciones derivadas de su estructura molecular (77), puede usarse para separar sustancias con pesos moleculares practicamente idénticos; habiéndose logrado la separación de isómeros cis-trans (83).

Los mayores efectos de adsorción observados corresponden a las sustancias aromáticas y gran parte de las heterocíclicas, frente a otras de tamaño similar pero no aromáticas.

En ensayos realizados en el presente trabajo se encontró que usando una solución acuosa de 2 g/l. de cloruro sódico (fuerza iónica del eluyente, $I = 0,035$) se evitaba el efecto de adsorción ("efecto aromático") para una mezcla compleja preparada en el momento de usarse con Blue Dextran (*), Rojo Congo, Helian-
tina, Verde de Bromocresol, Murexida y Ftalato ácido de potasio; con cualquiera de los tipos de Sephadex de la serie G.

Los diferentes tipos de Sephadex van especificados por caracteres alfanuméricos, según sus propiedades y aplicaciones. A continuación se citan las diversas series:

Serie G. G es el anagrama de gel. Sus aplicaciones son como gel hidrófilo para filtración molecular. Va acompañado por un número que especifica el intervalo de pesos moleculares para el que puede usarse, según sea el grado de entrecruzamiento (crosslinking) de las cadenas de dextrano (84).

Serie LH. Gel lipófilo e hidrófilo. Se obtiene a partir de la serie G, introduciendo radicales hidroxipropílicos (84).

Cambiadores iónicos. Obtenidos por introducción de grupos funcionales que modifican la estructura del gel de dextrano. En su caracterización va precedidos por las siglas DEAE- y QAE-, aniónicos débil y fuerte respectivamente, anagramas de dietilaminoetil y aminoetil cuaternario, en la forma cloruro y seguido de la letra A (aniónico) y el número que indica su grado de entrecruzamiento. Los cambiadores catiónicos llevan el prefijo CM- (carboximetil) y SP- (sulfopropil), respectivamente débil y fuerte, seguidos por la letra C y el número de entrecruzamiento (85).

IV.3.1.3.3. Descripción de los geles empleados.

Inicialmente se realizaron fraccionamientos de algunas muestras de las aguas obtenidas con diferentes geles de Sephadex para elegir aquellos que resultaran mas idoneos en la consecución de un buen desarrollo e interpretación del cromatograma correspondiente.

Para los ensayos de fraccionamiento llevados a cabo en el presente trabajo se eligieron dos tipos de relleno, con las siguientes características:

Sephadex G-50 Medium

- Diámetro de partícula seca: 50 - 150 μm .
- Volumen de lecho por gramo de gel seco: 12-15 ml.
- Intervalo de fraccionamiento para dextranos:
500 - 10.000 u.m.a.

Sephadex G-75 Medium

- Diámetro de partícula seca: 50 - 150 μm .
- Volumen de lecho por gramo de gel seco: 12-15 ml.
- Intervalo de fraccionamiento para dextranos:
1.000 - 50.000 u.m.a.

IV.3.1.4. Descripción del dispositivo experimental empleado.

En la Figura 4.4 se representa un diagrama de flujo de la instalación empleada en las separaciones cromatográficas de las distintas fracciones estudiadas en el presente trabajo.

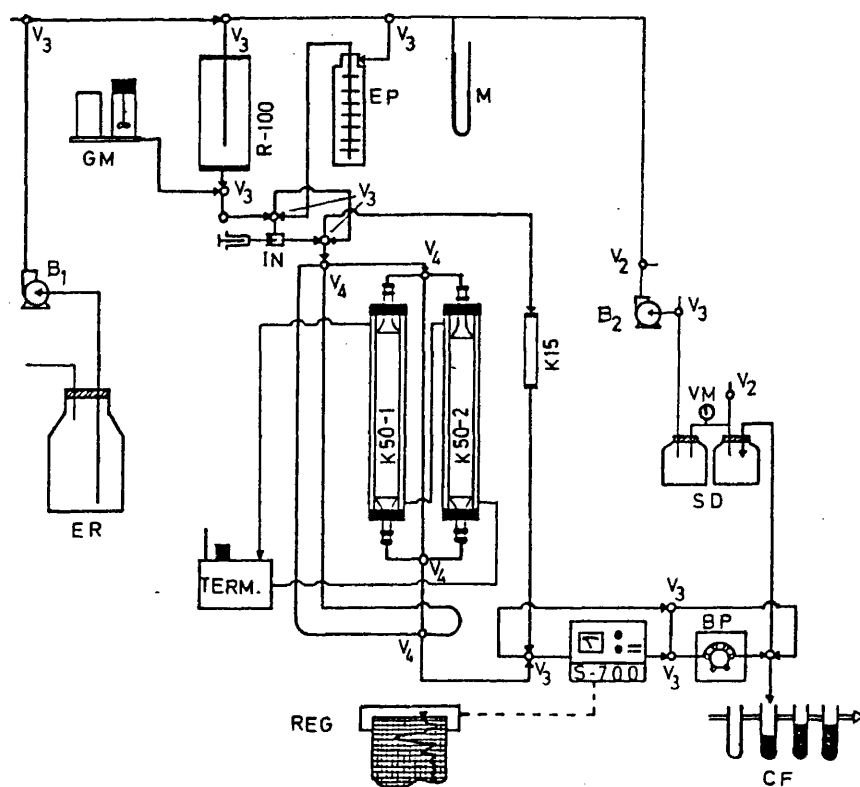


Figura 4.4. Diagrama de flujo. Instalación utilizada para separación de fracciones por Cromatografía de Filtración sobre Gel

Los elementos de que consta la misma son:

- FR : Depósito con eluyente en reserva.
- B₁ : Bomba centrífuga para trasvase de eluyente.
- R-100 : Recipiente contenedor de eluyente con capacidad para 10 litros. Puede someterse el eluyente a presión y funcionar como frasco de Mariotte.
- GM : Mezclador de eluyentes para formar gradientes lineales.
- EP : Estabilizador de presión, contenedor de eluyente.
- M : Magistral de mercurio.
- B₂ : Compresor-Vacuador.
- IN : Inyector de muestras, septum.
- K 50-1 : Columna con camisa termostática; L 1 m, DI 5 cm.
- K 50-2 : Columna con camisa termostática; L 1 m, DI 5 cm
- K 15 : Columna sin camisa; L 30 cm, DI 1,5 cm.
- TERM. : Termostato.
- BP : Bomba peristáltica.
- S-700 : Detector UV-vis. Espectrofotómetro Eausch & Lomb, Mod. Spectronic 700.

| | |
|----------------|--|
| REG | : Registrador gráfico. |
| SD | : Sistema de desagüe en succión a vacío. |
| VM | : Vacuómetro. |
| CF | : Colector de fracciones. |
| V ₂ | : Válvula de dos vías. |
| V ₃ | : Válvula de tres vías. |
| V ₄ | : Válvula de cuatro vías. |

Las posiciones de las diversas válvulas permiten operar con flujos ascendentes o descendentes con las columnas individualmente o en serie, a presión atmosférica (elución por gravedad), sobrepresión en cabeza, o succión en cola.

La existencia de una bomba peristáltica (PP) y de válvulas de control de flujo (no representadas en el diagrama de la Figura 4.4) a la salida de los elementos R-100 y GM, permite operar en una gama muy amplia de caudales de eluyente.

Las columnas K 50-1 y K 50-2 indicadas, se rellenaron con geles Sephadex G-50 Medium y Sephadex G-75 Medium respectivamente. En ambas se eluyeron muestras iguales de solución Blue Dextran (*) - CuCl_2 para obtener el valor de los diferentes parámetros, que se recogen junto a las características de cada columna en la Tabla IV.6.

Tabla IV.6

Determinación de parámetros en las columnas
K 50-1 y K 50-2 de la Figura 4.7

| Columna: | K 50-1 | K 50-2 |
|----------------|----------------------------|----------------------------|
| Relleno | Seph. G-50 M | Seph. G-75 M |
| Eluyente | sol. acuosa KCl (2 g/l) | sol. acuosa KCl (2 g/l) |
| Temperatura | 21°C | 21°C |
| Pres. trabajo | Gravedad | Gravedad |
| Tipo de flujo | Descendente | Descendente |
| Caudal | 1,42 ml/min | 1,42 ml/min |
| V _o | 618 ml | 505 ml |
| V _t | 1609 ml | 1609 ml |
| Eficiencia | 1532 platos | 2560 platos |
| Resolución | ,8,872 | 36,140 |

Para cada relleno se calcularon los intervalos de pesos y radios moleculares para los que pueden aplicarse en separaciones por permeabilización sobre gel, considerando moléculas lineales de base alifática que no interaccionen con el lecho de la columna (74,86,87). En la Tabla IV.7 se recogen estas determinaciones.

A la vista de los datos de las Tablas IV.6 y IV.7, se optó por cromatografiar las diversas fracciones sobre Sephadex G-75 Medium, tomándose en todos los ensayos una idéntica cantidad de muestra con una concentración en sólidos correspondiente al 10% de la lejía negra original.

Tabla IV.7

Margen de aplicación de Sephadex G-75 M y Sephadex G-50 M en la separación por filtración molecular de moléculas lineales de base alifática inertes con el relleno.

=====

| Relleno | <u>Seph. G-75 M</u> | <u>Seph. G-50 M</u> |
|---|---------------------|---------------------|
| Intervalo separación en pesos moleculares (uma) | | |
| - límite superior | 50000-70000 | 8900-11000 |
| - límite inferior | 1700- 3000 | 800- 1500 |
| Intervalo separación en tamaños moleculares (Å) | | |
| - límite superior | 36 - 42 | 16 - 21 |
| - límite inferior | 4 - 5 | 3 - 4 |

IV.3.2. METODOS DE ANALISIS.

En las leñas ensayadas se han realizado las siguientes determinaciones:

- 1) Compuestos lignínicos
- 2) Compuestos de azufre

- 3) Contenido en sólidos
- 4) Conductividad y resistividad
- 5) Demanda Química de Oxígeno (DQO)
- 6) Demanda Biológica de Oxígeno (DBO)

A continuación se describen brevemente las técnicas analíticas utilizadas para las diferentes determinaciones.

IV.3.2.1. Espectroscopía UV e IR.

Con ayuda de la espectroscopía infrarroja se pueden descubrir y determinar la mayor parte de los grupos funcionales presentes, ya se trate de sustancia pura, o de una mezcla.

La vibración electromagnética en las regiones del infrarrojo cercano y en el infrarrojo (0,8 - 30 nm), puede ser absorbida por todas las sustancias en mayor o menor proporción; la energía absorbida supone una excitación de la molécula a un estado superior de vibración. Las vibraciones aumentan de amplitud cuando una radiación electromagnética (infrarrojo) de igual frecuencia alcanza la molécula y la hace pasar al siguiente nivel de vibración (88). Mediante un tratamiento matemático de los intervalos de frecuencia se pueden llegar a conocer los momentos de inercia y, por consiguiente, es posible calcular longitudes de enlaces y los ángulos que estos forman en la molécula (89).

En el caso de una molécula orgánica de mediana complejidad, en disolución o en estado sólido, las líneas rotacionales

se encuentran juntas y confusas a causa de las colisiones y otras interacciones, que no posibilitan distinguirlas fácilmente. Aunque una vibración fundamental debe ser considerada como si en ella interviniesen todos los átomos de una molécula, la experimentación ha demostrado que las frecuencias de vibración de un gran número de grupos son, en parte, independientes del resto de la molécula; es decir, el movimiento de vibración se encuentra localizado en estos grupos. Estas vibraciones se denominan "frecuencias específicas" o de "grupos localizados", y sus valores vienen determinados por las masas de los átomos que toman parte en ellas, por su geometría molecular y por las fuerzas que unen a los átomos.

La posición exacta, forma e intensidad de una banda puede, por tanto, ofrecer información acerca de un grupo particular.

En las regiones ultravioleta y visible, la mayor parte de las moléculas en disolución ofrecen espectros que consisten en bandas de absorción muy anchas. Para cualquier estado electrónico de una molécula poliatómica existen gran número de estados de vibración, cada uno de los cuales puede subdividirse en niveles rotacionales. Las transiciones entre dos niveles electrónicos pueden, por tanto, dar lugar a una familia de líneas tan poco separadas que, generalmente, producen una banda ancha. En algunos casos la "estructura fina" de vibración puede permanecer perceptible, pero frecuentemente se obtiene una banda simple no muy intensa, especialmente en disolución, cuando las líneas se amplían a causa de efectos intermoleculares (88,90).

La gran diversidad de sustancias presentes en las lejías negras, y la posibilidad de múltiples transiciones electró-

nicas en cada una de ellas hacen practicamente imposible la identificación de moléculas aisladas por los métodos convencionales de análisis espectrofotométrico (54,91); no obstante puede aplicarse la espectroscopía en la región IR para determinar la presencia de algunos grupos funcionales, si no están en presencia de agrupamientos que interfieran sus bandas, tal como es el caso de los mercaptanos y sulfonas (88,92,93). El análisis espectrográfico en la región UV puede aplicarse para determinar diferencias entre las diversas fracciones de leñas negras, así como elegir las longitudes de onda apropiadas para detectar grupos de compuestos en la elución de las fracciones por cromatografía líquida cuando se usa un detector UV para este fin.

En los ensayos realizados en el presente trabajo, se usaron un espectrofotómetro de IR modelo 727 B de la firma Perkin Elmer, con un intervalo de números de onda de 500 a 4.000 cm^{-1} , y un espectrofotómetro de UV-visible modelo Spectronic 700 de la firma Bausch & Lomb, con un intervalo de longitudes de onda desde 200 a 950 nm.

IV.3.2.2. Análisis de compuestos de azufre.

IV.3.2.2.1. Contenido total de azufre.

El contenido total de azufre en las leñas se determina por el procedimiento aconsejado por el "Pulp & Paper Research Institute of Canada" (39) mediante la oxidación de la muestra con

$\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ y HNO_3 que presenta una fiabilidad superior al 99%. El procedimiento consiste en atacar en frasco Kjeldahl una cantidad determinada de lejía negra con peróxido de hidrógeno homogeneizando la muestra y añadiendo solución de $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ y HNO_3 concentrado, calentando suavemente hasta redissolver el precipitado de lignina y evaporando en vitrina hasta obtener un jarabe. El jarabe se calienta fuertemente hasta que quede envuelto en vapores nitrosos marrones, se enfría y añade una nueva cantidad de HNO_3 concentrado y se evapora nuevamente hasta la aparición de humos, procediendo a un nuevo enfriamiento y adición de HCl concentrado, con una nueva evaporación hasta reducir el volumen a unos 2,5 a 3 ml, tras lo cual se diluye el jarabe y se filtra, añadiéndose después ácido pícrico y calentando hasta ebullición, consiguiéndose así la oxidación total del azufre presente a la forma sulfato que se determina gravimétricamente precipitándolo con disolución de cloruro bórico.

IV.3.2.2.2. Mercaptanos.

IV.3.2.2.2.a. Ensayo de Feigl.

El método consiste en la reducción de I_2 a la forma I^- por el azufre divalente del grupo $-\text{SH}$ en medio alcalino (94). Los tiocarbonilos en concentración superior a 0,6 ppm pueden interferir en el ensayo, lo que se evita en presencia de azida sódica.

El reactivo de Feigl se preparó disolviendo 1 gr de

NaN_3 en 100 ml de solución 0,1 N de iodo.

La cantidad remanente de I_2 , tras la reacción, se valora con disolución de tiosulfato sódico 0,01 N.

Este ensayo permite detectar cantidades del orden de 0,06 ppm de mercaptanos.

IV.3.2.2.2.b. Determinaciones espectrofotométricas.

El radical -SH tiene una región de absorción en el infrarrojo comprendida entre los $2.400 - 2.600 \text{ cm}^{-1}$ que puede considerarse exclusiva de este tipo de estructura, presentando una banda de absorción débil de la energía de enlace correspondiente a un número de onda de 2.570 cm^{-1} .

El grupo R-SH, es probablemente el de mas fácil identificación por la espectroscopía IR ya que está libre de interferencias con otros grupos, a excepción de algunos nitrogenados o fosforilados que se encuentran ausentes en las lejías negras.

La presencia de ácidos carboxílicos no ionizados podría interferir en la zona superior de la región señalada ya que presenta una banda en $2.5570-2.750 \text{ cm}^{-1}$ que es fácil distinguir por ser siempre una banda ancha. Por otra parte la presencia de grupos -OH si diera lugar a la formación de quelatos podría interfe-

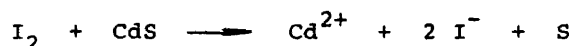
rir también en la zona superior de dicha región (92,93).

El análisis espectrográfico IR proporciona, además, información sobre la presencia de otros radicales sulfurados tales como sulfóxidos, que presentan una banda de absorción en la zona próxima a los 1.030 cm^{-1} , y sulfonas, con bandas fuertes en las zonas de 1.120 a 1.160 cm^{-1} y 1.300 a 1.350 cm^{-1} .

IV.3.2.2.3. Sulfuros.

El método se basa en la liberación de ácido sulfhídrico al acidificar la muestra que contiene sulfuros con H_2SO_4 . El gas sulfhídrico desprendido se hace burbujear a través de una disolución conteniendo iones Cd^{2+} , formándose un precipitado de CdS .

El precipitado recogido, se trata con disolución de I_2 en exceso y ácido clorhídrico, produciéndose la oxi-reducción siguiente:



El iodo en exceso se valora después con tiosulfato sódico.

Si la disolución de Cd^{2+} , a través de la cual se burbujea la corriente de gas, es alcalina interfieren los mercaptanos.

El método puede servir para analizar conjuntamente sulfuros y mercaptanos si el gas se pasa en primer lugar a través de CdSO_4 en H_2SO_4 0,05 M (los mercaptanos no se absorben) y posteriormente a través de CdCl_2 alcalinizando con NaOH ; los mercaptanos dan el CdS que se valora igual que antes (91).

En la Figura 4.5 se representa el dispositivo para la recogida de precipitados de sulfuros y mercaptanos.

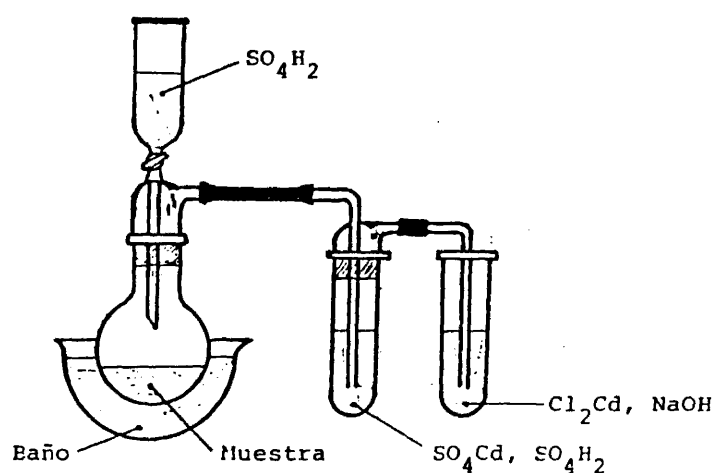


Figura 4.5. Dispositivo para recogida de sulfuros y mercaptanos.

IV.3.2.3. Identificación de productos lignínicos.

IV.3.2.3.1. *Absorción de luz en la región UV.*

Como ya se ha citado (apartado III.2.3.1.) las fracciones lignínicas presentan un máximo de absorbancia próximo a 280 nm (54) así como en la región de 220 - 240 nm.

La obtención de espectrogramas que presenten estas características intuirán la presencia de grupos cromóforos, responsables de dicha absorción, similares a los supuestos constitutivos de la lignina, aunque no permita la predicción de las sustancias específicas causantes de tal fenómeno.

IV.3.2.3.2. *Índice de metoxilos. Método micro de Leisel.*

El procedimiento consiste en tratar con ácido iodhídrico caliente, en disolución fenólica, el residuo seco de las fracciones conseguidas (95). Los grupos $-OCH_3$, ligados a los anillos bencénicos de las moléculas de hemiligninas, son transformados a yoduro de metilo. Los vapores desprendidos se arrastran con CO_2 a través de un frasco lavador con solución acuosa de sulfato de cadmio y tiosulfato sódico, con el fin de retener el ácido iodhídrico, yodo y ácido sulfhídrico. El yoduro de metilo, prácticamen

te puro, se absorbe en una disolución de bromo y acetato potásico anhidro en ácido acético glacial dando lugar a la formación de ácido iódico cuya valoración conduce a la cantidad correspondiente de grupos metoxilos en la muestra tratada.

En la Figura 4.6 se puede ver el aparato empleado.

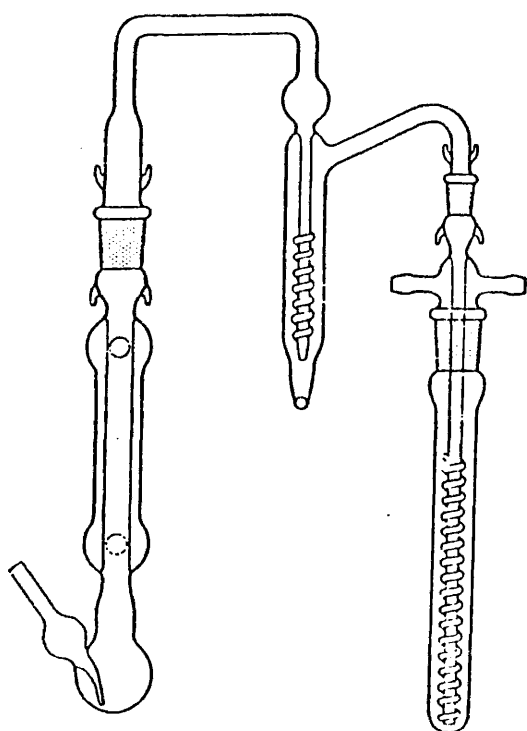


Figura 4.6. Aparato para determinación de grupos metoxilo por el método de Zeisel.

La determinación de los grupos metoxilo, en posición orto al hidroxilo fenólico de las cadenas de fenilpropano, proporcionan una información acerca de la naturaleza lignínica de los componentes de cada muestra ensayada.

IV.3.2.4. Contenido en sólidos.

El método corriente de determinación de sólidos consiste en la evaporación a sequedad de una muestra en estufa a 105°C. El método Tappi 625 m-48 especifica que deben tomarse 10 ml de muestra.

En el presente trabajo las determinaciones del contenido total de sólidos se realizaron siempre con 10 ml de muestra en un crisol de porcelana, previamente secado, dejado en estufa de convección natural a 105°C durante 24 hr.

La diferencia de pesada (en gramos) entre el crisol vacío y después del secado de la muestra se multiplica por 100 para expresar el contenido en sólidos del líquido original en g/l.

Una segunda determinación permite conocer la naturaleza de dichos sólidos.

Se denominan sólidos fijos los que permanecen después

de calcinar a 600°C hasta pesada constante el residuo anterior. La diferencia entre los sólidos totales y la cantidad remanente se considera como sólidos volátiles. También se expresa su contenido en gramos por litro , o miligramos por litro.

El contenido en sólidos fijos es orientativo de la cantidad de inorgánicos presentes en la muestra, mientras que los sólidos volátiles (pirolizables) pueden servir para conocer el contenido de sustancias orgánicas.

IV.3.2.5. Conductividad y resistividad.

Tratándose de disoluciones, la medida de la conductividad puede proporcionar información complementaria sobre la naturaleza del soluto. Resulta obvio exponer que los solutos ionizados, disociados o fuertemente polarizados proporcionan disoluciones con mayor conductividad que el medio disolvente y, por el contrario, la presencia de sustancias eléctricamente inactivas proporcionan un medio con mayor resistividad.

Para sustancias puras, cuya carga específica sea conocida, es posible determinar correlaciones entre conductividad y concentración de la disolución a una temperatura determinada.

Las determinaciones de conductividades, en el presente trabajo, se han realizado con un conductivímetro "Radiometer" tipo CDM 2e utilizando un electrodo doble, modelo AB, tipo CDC 104. La escala del aparato permite determinar conductividades entre 0,005 μmho y 500 mmho .

La resistividad, en ohm, viene determinada por la inversa de la conductividad.

Como referencia de la naturaleza eléctrica de las sustancias se toma el incremento de resistividad, $\Delta\rho$, definido como la diferencia de resistividades de la disolución y el disolvente.

IV.3.2.6. Demanda Química de Oxígeno (DQO).

Como parámetro indicativo del contenido en materia orgánica total se determina la cantidad de oxígeno que sería necesaria para producir la oxidación total de la misma.

Para la determinación de la DQO se ha seleccionado el método del dicromato a reflujo, por su gran reproductividad, por ser aplicable a gran variedad de muestras y resultar mas ventajoso, técnicamente, que los métodos que utilizan otros oxidantes (96).

El método consiste en tratar la muestra con una cantidad en exceso de disolución de dicromato potásico en medio ácido con H_2SO_4 , calentándose a reflujo durante 2 hr. Después se valora el dicromato no consumido con disolución de sal de Mohr, utilizando ferroína como indicador.

Usando sulfato de plata como catalizador se consigue la oxidación en un 85 - 95%, o mas, de los alcoholes y ácidos de cadena simple corta inhibiéndose, además, las interferencias de cloruros, bromuros y ioduros por formar precipitados de baja solubilidad con el catión Ag^+ .

Para la mayoría de los compuestos orgánicos la oxidación alcanza el 95 % a 100% (97). En cambio no se oxidan el benceno, el tolueno ni la piridina.

El cálculo para expresar la DQO de la muestra ensayada (usando Ag_2SO_4 como catalizador) se realiza mediante la expresión:

$$\text{DQO} = \frac{(\text{A} - \text{B}) \cdot \text{N} \cdot 8000}{\text{ml de muestra}} \quad \text{ppm}$$

donde:

DQO.: consumo equivalente de oxígeno en mg/l.

A : ml. de solución de sal de Mohr usados para la valoración del $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (testigo en blanco).

B : ml de solución de sal de Mohr usados para la valoración del $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ en exceso.

N : normalidad de la disolución de sal de Mohr.

IV.3.2.7. Demanda Biológica de Oxígeno (DBO).

Ya ha sido expuesto el significado de la DBO como la cantidad de oxígeno que requieren los microorganismos para descomponer por vía aerobia las impurezas orgánicas (también algunas inorgánicas como sulfitos y nitritos) disueltas.

El valor de esta propiedad ha de referirse al tiempo del ensayo, siendo muy corriente la determinación de la DBO_5 , aceptada como la medida de la cantidad de oxígeno requerida por los microorganismos responsables de la descomposición aerobia, durante cinco días, a una temperatura de 20°C y a pH neutro.

Diversos métodos se han desarrollado para determinar la DBO algunos de los cuales proporcionan una gran precisión (98-101). En todos ellos se requiere un cuidado especial en la preparación de las muestras, debiendo añadirse microorganismos y ciertas sales minerales que proporcionen los nutrientes necesarios y mantengan el pH próximo a la neutralidad durante todo el ensayo. Así mismo se debe realizar un ensayo en blanco en idénticas condiciones cuyo resultado habrá de tenerse en cuenta para la determinación final del valor correspondiente a la muestra analizada.

En el presente trabajo, la DBO se determinó por el méto

do manométrico (102). Este método consiste en mantener la muestra agitada convenientemente en contacto con un volumen de aire suficiente, en el interior de un frasco conectado a una de las ramas de un manómetro de mercurio, manteniéndose durante el ensayo la temperatura de 20°C y pH prácticamente neutro; lo primero se consigue con un sistema termostático, y lo segundo añadiendo ciertas sales minerales que actúan como tampón.

Al producirse el consumo de oxígeno durante la oxidación biológica, tiene lugar una disminución de la concentración del mismo que tiende a recuperarse por absorción del existente en el volumen de aire con el que la muestra está en contacto. Así se produce una depresión en el aire en contacto con la muestra, y puede medirse la DBO en la escala manométrica calibrada en partes por millón (ppm). El CO₂ desprendido que supondrá una presión aditiva se retiene como precipitado si la muestra contiene ión calcio (se añade CaCl₂), y el resto que pudiera desprenderse se absorbe en una capsula conteniendo KOH que se coloca en el interior del frasco fuera del contacto con el líquido.

Este método presenta la ventaja de suministrar en cada momento del proceso la DBO ejercida, y de esta manera seguir la evolución de la misma

En la Figura 4.7 puede verse un esquema del dispositivo descrito, de manera muy simplificada.

Para realizar las medidas correspondientes se dispuso de un aparato para medida de la DBO por el método manométrico de la casa HACH, modelo 2173 BOD.

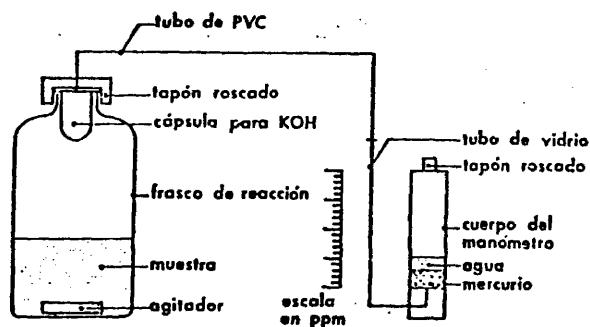


Figura 4.7. Sistema manométrico para medida de la DBO.

IV.5. REALIZACION PRACTICA DE LAS OPERACIONES DE COAGULACION-FLOCULACION Y ADSORCION.

Como se ha indicado, las dos primeras etapas del procedimiento que se analiza en el presente trabajo consisten en la coagulación y floculación del coloide lignínico disuelto en las aguas residuales y el posterior tratamiento de las mismas por adsorción, una vez separado por filtración a vacío el precipitado obtenido.

La coagulación y floculación de la lignina se llevó a cabo en un sistema de mezcla total con un grado de agitación de 120 r.p.m., añadiendo lentamente el floculante (H_2SO_4) sobre la

lejía residual y midiendo constantemente el pH de la misma mediante un pH-metro "Metrohm Herisau Mod. E 512". La dosificación del reactivo se realizó mediante un titrador "Metrohm Herisau, DOSIMAT" accionado manualmente. Alcanzado el valor de pH deseado se dejó reposar la muestra durante 30 minutos, transcurridos los cuales se separó el precipitado obtenido por filtración a vacío utilizando para ello una placa porosa del N° 4 cuya superficie filtrante se recubrió con una capa de CELYTE 503, como coadyuvante de filtración.

La adsorción se realizó mediante carbón activo en polvo con una superficie específica de $679 \text{ m}^2/\text{g}$, empleando una dosis de 2 g/l en tanque agitado (120 rpm), a $\text{pH} = 3,5 - 4$, que es el que presenta el agua tras la primera etapa del tratamiento y con un tiempo de contacto de 30 minutos, transcurridos los cuales se separa el absorbente del agua por filtración.

(*) Blue Dextran [®]. Polímero de dextrano coloreado de azul, hidrófilo y lipófilo con $V_e = V_o$ en todos los lechos de Sephadex.

V. RESULTADOS EXPERIMENTALES,
INTERPRETACION Y DISCUSION

V. RESULTADOS EXPERIMENTALES. INTERPRETACION Y DISCUSION.

V.1. COMPOSICION DE LAS AGUAS DE PARTIDA.

V.1.1. ANALISIS DE COMPUESTOS LIGNINICOS.

Se parti6 de una lejía de cocción (LN-01), cuya preparaci6n responde al esquema indicado en el apartado III.2.

Las características de esta lejía son:

pH : 13,3
sólidos totales: 130,0 g/l
sólidos fijos: 33,5 g/l
sólidos volátiles: 96,5 g/l
índice de metoxilo: 1,192 %

Una pequeña cantidad de la misma se diluyó hasta un grado igual al 10% del correspondiente a la lejía negra original, tras lo cual se neutralizó y tamponó a pH = 7,2. Una muestra de esta lejía tamponada se diluyó nuevamente hasta una concentración final del 0,2% de la L.N. original, obteniéndose en primer lugar

su espectrograma en la región del UV, por comparación de absorban_cias a diferentes longitudes de onda frente a agua destilada como blanco de referencia. Dicho espectrograma se muestra en la Figura 5.1.

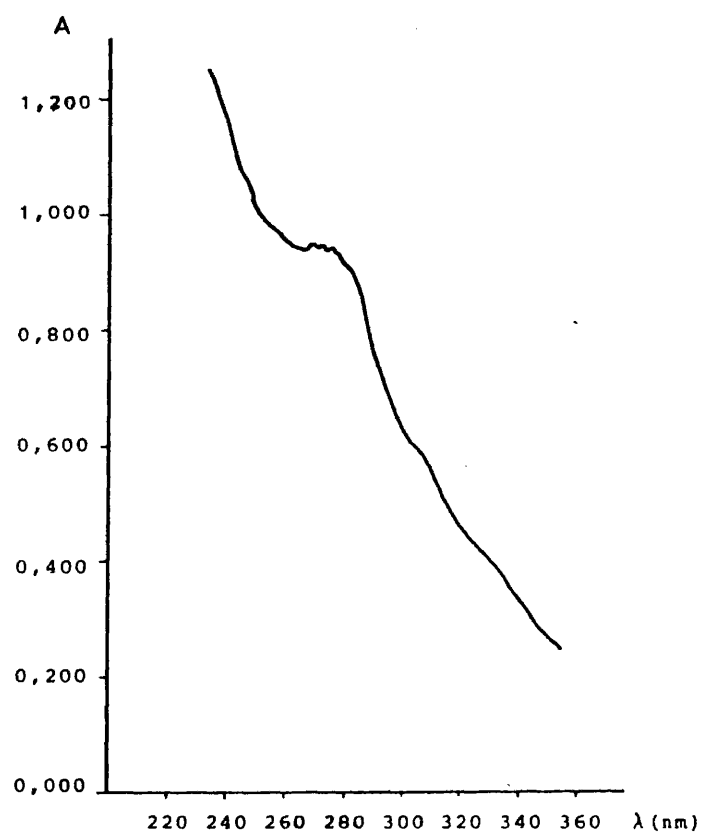


Figura 5.1. Espectrograma UV típico de las aguas residuales de partida LN-01. Concentración: 0,2% con respecto a la lejía negra original correspondiente. pH = 7,2.

Otra muestra de la lejía negra original se desecó a 105 °C hasta pesada constante, sometién dose el residuo seco obtenido a una serie de extracciones consecutivas utilizando el sistema di señado por Shotlex, obtenién dose los espectros UV en la misma for ma que el anterior.

Los disolventes empleados en la extracción fueron los siguientes en el orden indicado:

- n-Heptano, sobre el residuo seco de la L.N. original.
- Benceno, sobre el residuo de la extracción con n-heptano.
- Etanol, sobre el residuo de benceno.
- Eter etílico, sobre el residuo de etanol.
- Agua destilada, sobre el residuo anterior.

La denominación y características de cada una de las fracciones es la siguiente:

- 1.) - Fracción EH (disolvente: n-Heptano, 100 ml)
Concentración: 1/3 respecto a la L.N. original.
Color: incolora.
Sólidos totales: 0,844 g/l.
Espectro UV: Figura 5.2, frente a n-heptano como blanco de referencia.
- 2.) - Fracción EB (disolvente: benceno, 100 ml)
Concentración: 1/3 respecto a la L.N. original.
Color: incolora.
Sólidos totales: 2,080 g/l.
Espectro UV: Figura 5.3, frente a benceno como blanco de referencia.

- 3.) - Fracción EA (disolvente: alcohol etílico, 100 ml)
 Concentración: 1/3 respecto de la L.N. original.
 Color: marrón-anaranjado claro.
 Sólidos totales: 7,637 g/l.

Al enfriarse aparece un sedimento, separándose dos sub-fracciones:

- 3.1) - Fracción EAF (filtrado de la fracción EA)
 Color: el mismo de la fracción EA.
 Espectro UV: Figura 5.4, frente a etanol como blanco de referencia.
- 3.2) - Fracción EAP (precipitado de EA, producido al enfriar)
 Color: café con leche claro.
 Aspecto: coposo, no cristalino.
 Espectro UV: Figura 5.5, previa dilución en agua destilada después de secarse en estufa a 80°C hasta pesada constante, frente a agua destilada como blanco de referencia.
- 4.) - Fracción EE (disolvente: éter etílico, 100 ml)
 Concentración: 1/3 respecto a la L.N. original.
 Color: incoloro.
 Sólidos totales: 1,215 g/l.
 Espectro UV: Figura 5.6, frente a éter etílico como referencia.

- 5.) - Fracción EW (disolvente: agua destilada, 100 ml)
 Concentración: 1/3 respecto de la L.N. original.
 Color: marrón oscuro.
 Sólidos totales: 32,597 g/l.
 Índice de metoxilos (referido a L.N. original):
 1,179 %.

Espectro UV: Figura 5.7, previa dilución hasta un grado igual al 1% de la L.N. original y neutralización a pH = 7,2, frente a agua destilada como blanco de referencia.

- 6.) - Fracción EWF (resultante de precipitar con H_2SO_4 y separar por filtración el coloide lignínico de la fracción EW)

Espectro UV: Figura 5.8, previa neutralización a pH = 7,2 y dilución hasta el 5% de la L.N. original, frente a agua destilada como blanco de referencia.

- 7.) - Fracción EWP (redisolución del precipitado obtenido de EW, al precipitar con ácido, en solución alcalina $NaHCO_3$ -NaOH y posterior neutralización a pH = 7,2)

Espectro UV: Figura 5.9, previa dilución hasta el 2% de la L.N. original, frente a agua destilada como blanco de referencia.

Como complemento a los espectrogramas expuestos, y para dar una orientación a su interpretación, se determinaron los correspondientes a los diversos extractos que se fueron aislando de la madera al separar, de la misma, la lignina según Norma Tappi 13 OS-54 (55), que comprende cuatro etapas:

a) Extracción con alcohol del 95%, durante cuatro horas, de los taninos tipo catecol existentes en la madera.

b) Extracción con solución de alcohol-benceno 1:2, durante cuatro horas, para separar resinas, aceites, grasas y ceras.

c) Digestión durante tres horas con agua caliente a 100 °C en un baño de agua, separándose las sustancias solubles en agua.

d) Ataque con ácido sulfúrico del 72% frío, añadiéndose lentamente y agitando, para homogeneizar la muestra, al menos durante un minuto. Se deja reposar durante dos horas a una temperatura de 18 a 20°C, agitando frecuentemente. Después se lava el material y se diluye el ácido hasta una concentración del 3% con agua destilada y se hierve a reflujo durante cuatro horas. En esta etapa se consigue hidrolizar los carbohidratos, y el residuo insoluble que queda, lavado y seco, se considera como lignina, calculándose su porcentaje sobre madera no-extraída libre de humedad.

Los datos correspondientes al peso del residuo de la muestra inicial de madera en cada paso y al contenido en sólidos de cada fracción se recogen en la Tabla IV.1.

Los diferentes extractos obtenidos se diluyeron hasta un grado igual al 10% del inicial con el mismo disolvente usado en cada extracción y se determinaron sus espectros en la región UV de 220 - 360 nm frente al disolvente correspondiente en cada caso.

Para cada fracción se ha representado su coeficiente de extinción frente a la longitud de onda (Figura 5.10) y la absorbancia relativa según el tanto por ciento que representa la cantidad extraída respecto de la cantidad de madera seca de partida (Figura 5.11) — como el producto del coeficiente de extinción por el tanto por ciento de dicho extracto en la madera — (A/m) frente

a la longitud de onda del intervalo de medida.

Tabla V.1

Composición de la madera de "Eucalyptus Globulus" utilizada en la preparación de lignina.

Madera de partida : 6,8617 g

Humedad: 9,22 %

| Componentes | g | % sobre mad. seca |
|--|--------|----------------------|
| Ext. alcohol (taninos) | 0,5678 | 9,11 |
| Ext. alc-benc. (grasas, resinas, céridos) | 0,0520 | 0,84 |
| Hidrosolubles (azúcares y otros) | 0,3207 | 5,14 |
| Carbohidratos | 3,7675 | 60,49 |
| Lignina | 1,2085 | 19,40 |
| Pérdidas | 0,3126 | 5,02 |

En las figuras 5.2 a 5.9 pueden verse los correspondientes espectrogramas de las fracciones obtenidas en la serie de extracciones sucesivas, del residuo seco de L.N., ya citadas.

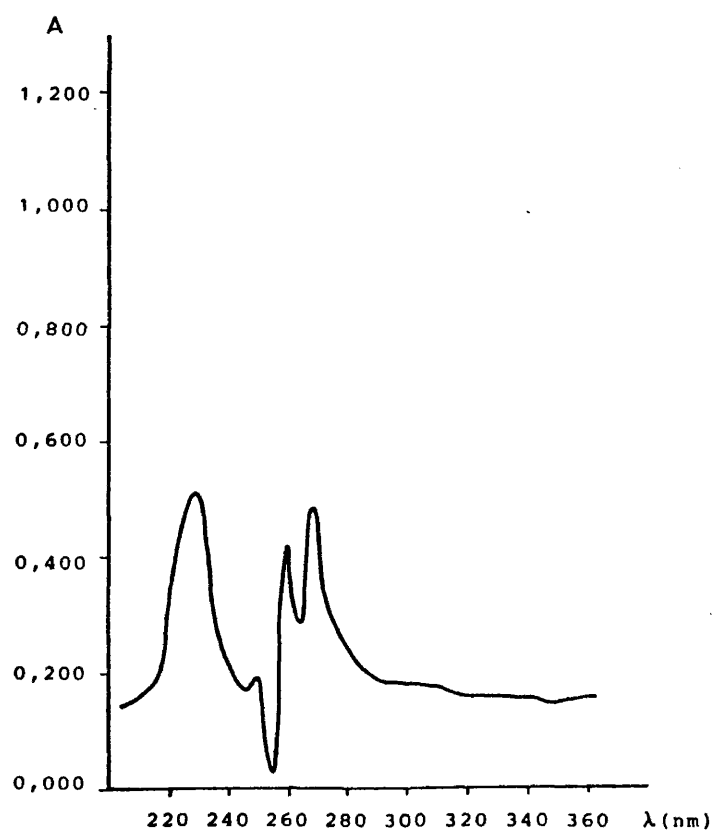


Figura 5.2. Espectrograma de EH.

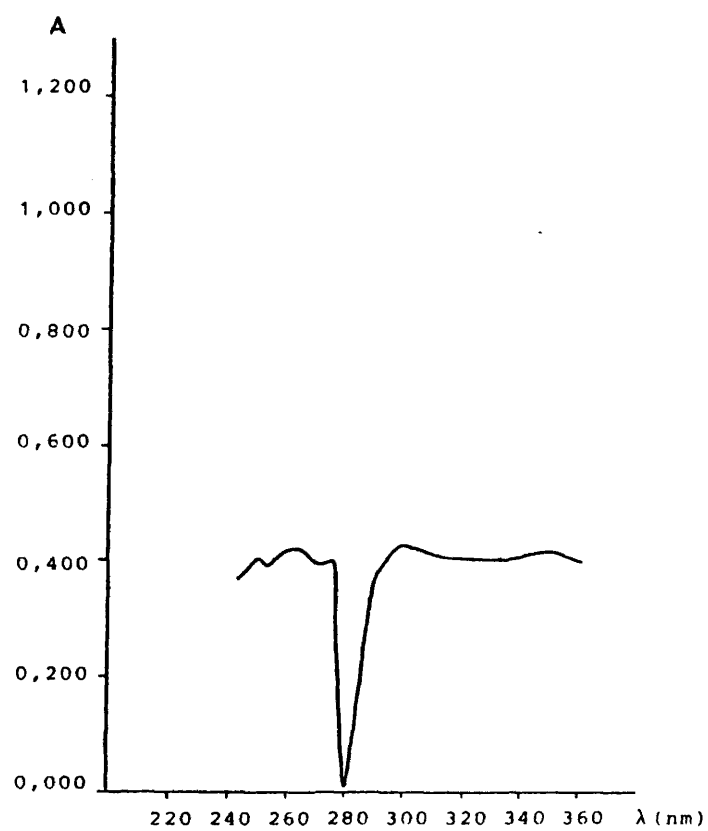


Figura 5.3, Espectrograma de EB

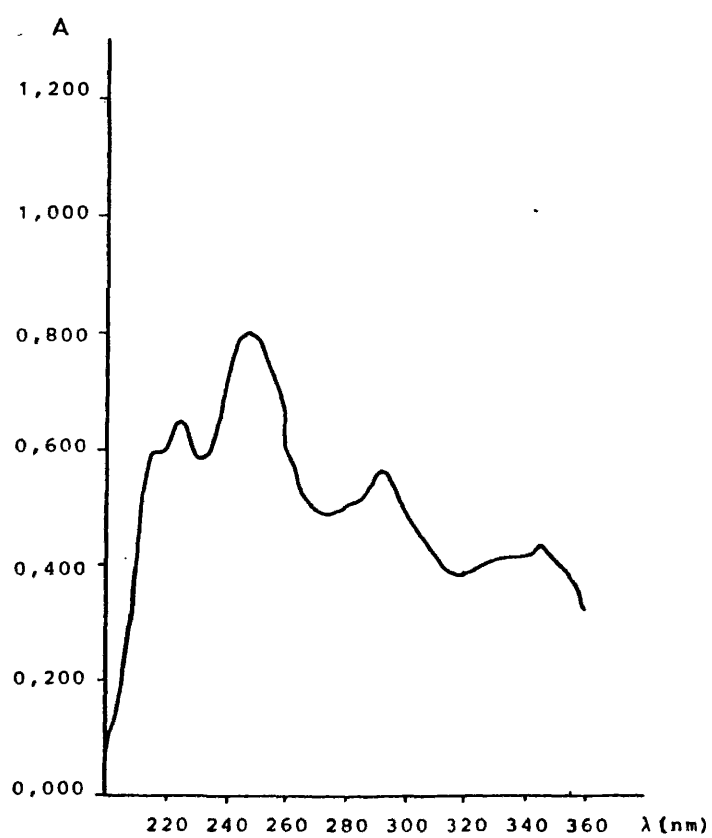


Figura 5.4. Espectrograma de EAF

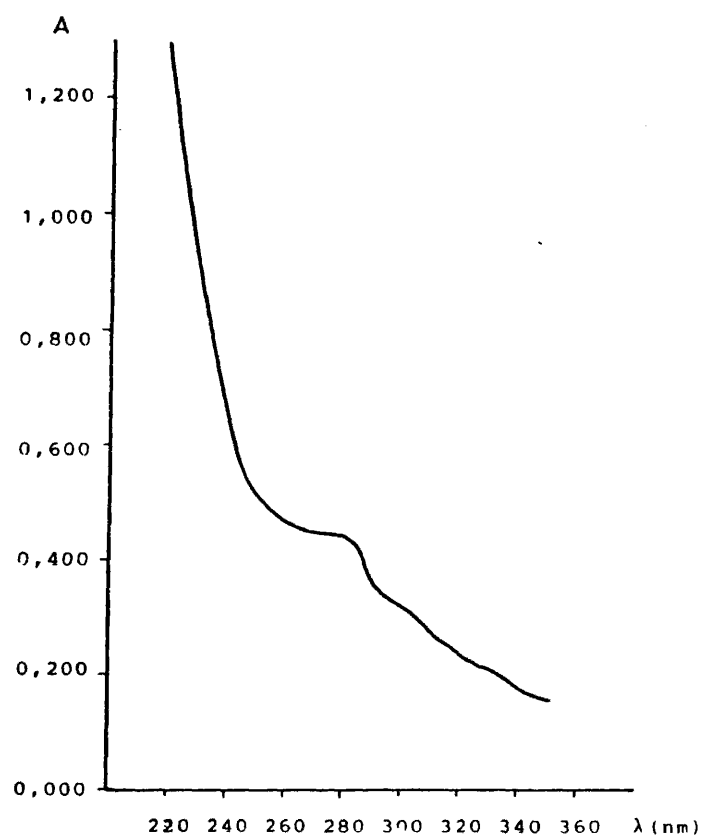


Figura 5.5. Espectrograma de EAP

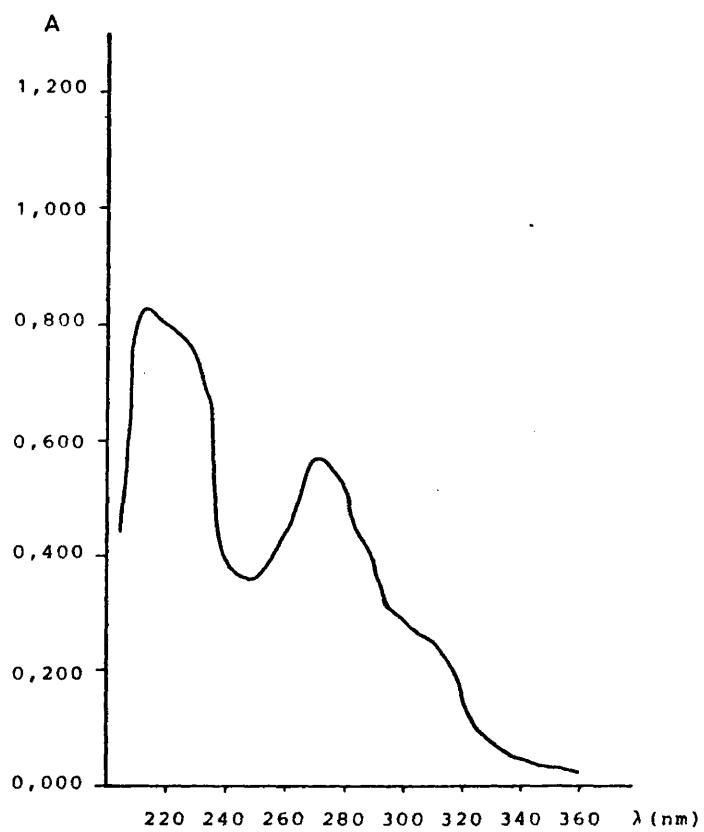


Figura 5,6. Espectrograma de EE,

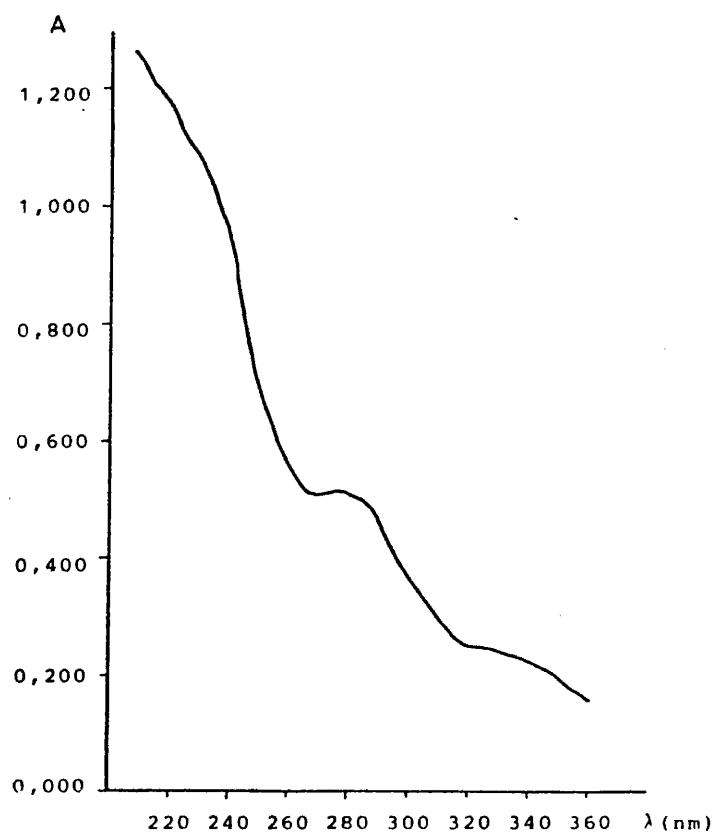


Figura 5.7. Espectrograma de EW.
(concentración: 1% de la L.N. original,
pH = 7,2).

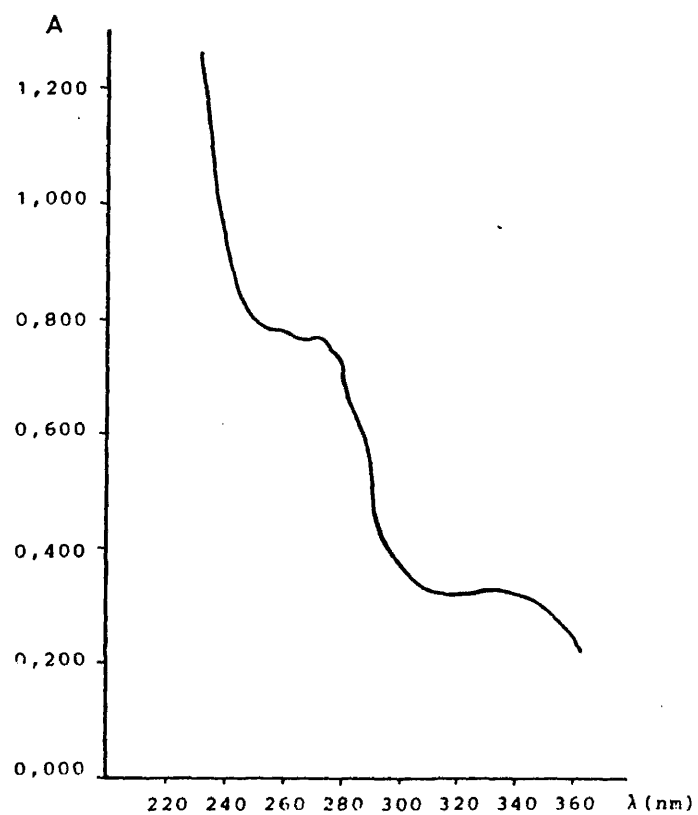


Figura 5.8. Espectrograma de EWF.
(concentración: 5% de la L.N. original,
pH = 7,2).

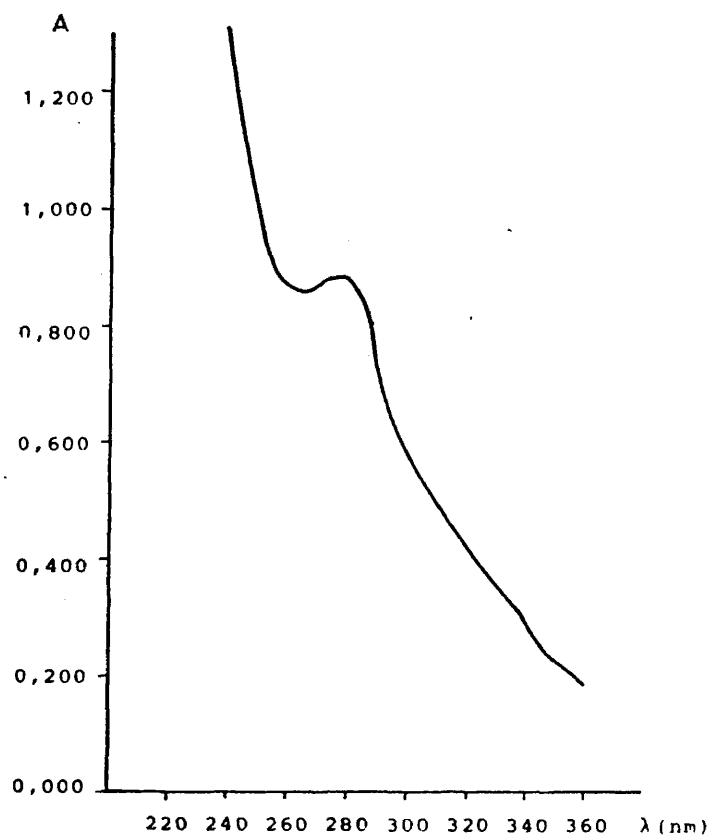


Figura 5.9. Espectrograma de EWP.
(concentración: 2% de L.N. original,
pH = 7,2).

En la primera extracción parecen disolverse compuestos de cadena lineal con funciones carboxílica o carbonílica que presentan bandas de absorción intensa próximas a 205 nm y 260-295 nm respectivamente, probablemente con mas de dos enlaces dobles o triples entre carbonos, los cuales presentan bandas de absorción intensas entre los 250-330 nm, que refuerzan, a la vez que desplazan, a la de los grupos -CO- y -COO^- .

Así mismo puede pensarse en la presencia de monómeros de Hibbert y de compuestos mono y disustituidos del benceno (unidades sencillas de fenilpropanos) ya que los mismos presentan bandas de absorción máxima hacia los 210-240 nm y 250-280 nm (50). Como ya se ha indicado en el apartado III.2.3.1, los monómeros de Hibbert son compuestos aromáticos con un solo anillo bencénico, como la vainillina y otros derivados de esta.

En el espectrograma de la fracción EB (Figura 5.3) se observa un mínimo de absorbancia a los 280 nm, lo que hace suponer que en esta segunda extracción se completa la solubilización de los polímeros de fenilpropano con bajo G.P. iniciada en la extracción con n-heptano (54).

El espectrograma de la fracción EAF (Figura 5.4) presenta máximos de absorbancia a 225 nm, 247 nm, 292 nm y 345 nm, mientras que la fracción EAP (Figura 5.5) presenta absorciones de luz elevadas por debajo de los 240 nm decayendo hacia longitudes de onda mas altas, presentando cierta similitud con el espectrograma de la lejía negra de partida (Figura 5.1).

Cabe pensar, por lo tanto, que en la extracción con etanol se solubilizan los componentes con función carbonílica preci-

pitando, al enfriar, los de mayor tamaño (hemicelulosas) junto con otros de base aromática de bajo peso molecular. Estos últimos pueden acompañar a las hemicelulosas al quedar retenidos en los flóculos de estas por fuerzas de adsorción grandes, del tipo quelatos, o bien porque durante la cocción de la madera se hubiera producido la solubilización de lignina y hemicelulosas sin romperse el puente de oxígeno que se supone liga a ambos componentes o, en su caso, que se hubiera producido algún enlace entre ellos tal como se indicó para la lignina en el apartado III.2.3.1.

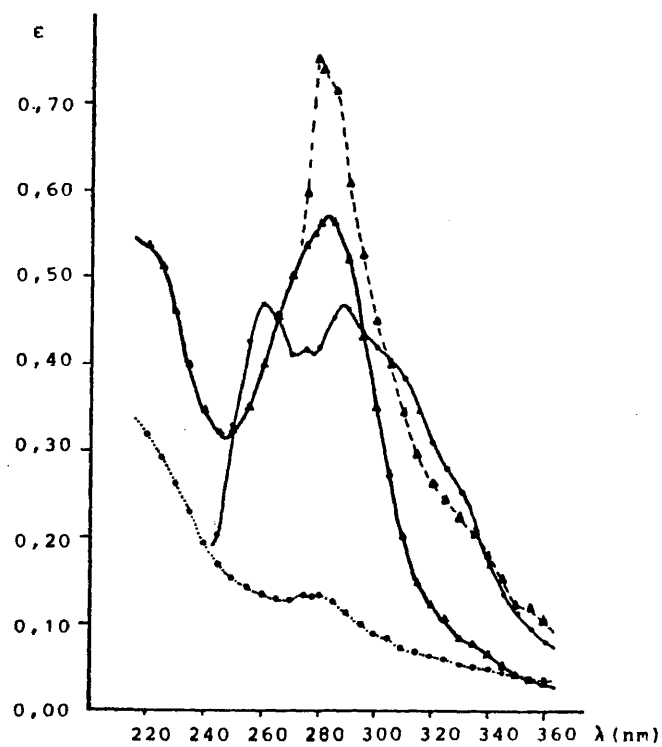
En disolución quedan los monosacáridos y otros azúcares de bajo peso molecular junto con otros componentes de naturaleza aromática con mayor masa.

En el espectrograma correspondiente a la fracción EE (Figura 5.6) se observan dos bandas de absorción anchas entre los 205-235 nm y 260-285 nm lo que permite pensar que los componentes extraídos con el éter etílico corresponden en su mayor parte a grasas, ceras y componentes resínicos que pudieran quedar en el residuo de la L.N., y otros con funciones aldehído y cetona, ya que presentan unos coeficientes de extinción elevados como puede observarse en las figuras 5.10 y 5.11 (paginas 110 y 111).

Las figuras 5.7, 5.8 y 5.9 muestran los espectrogramas correspondientes a las fracciones EW, EWF y EWP. Estos guardan una gran similitud con los correspondientes a la L.N. inicial (Figura 5.1). Es probable que la mayor parte de los componentes lignínicos iniciales (con alto G.P.) no solubilizados en los disolventes anteriores queden disueltos en la extracción acuosa final.

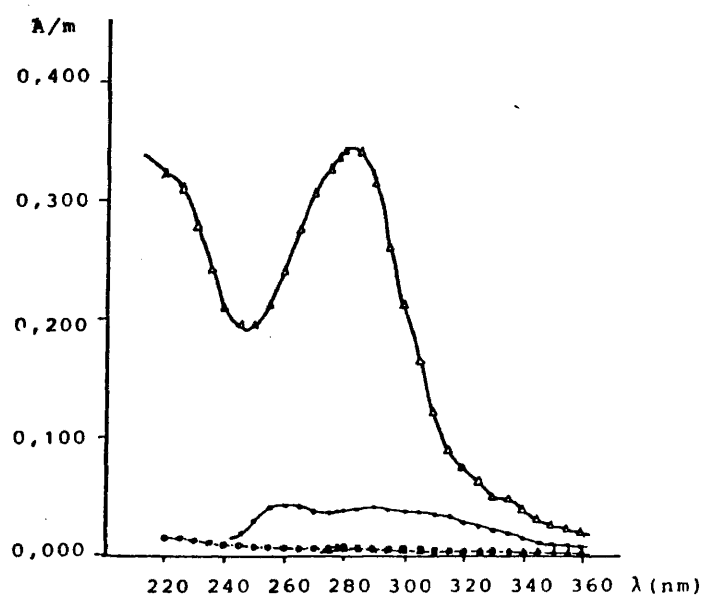
En las figuras 5.10 y 5.11 se recogen los coeficientes

de extinción y absorbancias relativas de los extractos obtenidos de la madera y recogidos en la Tabla V.1.



- Taninos tipo catecol
- ▲ Grasas, resinas, aceites y ceras
- Hidrosolubles
- ▲ Carbohidratos

Figura 5.10. Coeficientes de extinción de los extractos de la madera recogidos en la Tabla V.1.



- Taninos tipo catecol
- ▲ Grasas, resinas, aceites y ceras
- Hidrosolubles
- △ Carbohidratos

Figura 5.11. Absorbancias relativas de los extractos de la madera recogidos en la Tabla V.1.



Finalmente, con el propósito de obtener una información adicional sobre el rango de pesos moleculares de los diversos componentes presentes en la lejía negra inicial, se procedió a cromatografiar muestras de la lejía LN-01 y del extracto acuoso final, eluyéndose con disolución de NaCl (2 g/l) y NaN_3 (0,2 g/l) en agua destilada a través de un lecho de un metro de longitud relleno con Sephadex G-75 M.

Se eluyeron tres muestras de 1 ml por cada fracción determinándose la correspondiente absorbancia a 280 nm en el eluato que abandona la columna.

Cada muestra de una misma fracción presentaba cromatogramas muy similares, practicamente superponibles. En las figuras 5.12 y 5.13 se recogen los cromatogramas tipo de cada fracción eluida, representándose absorbancias a 280 nm frente a volumen de eluido (V_e) y R (V_e / V_o).

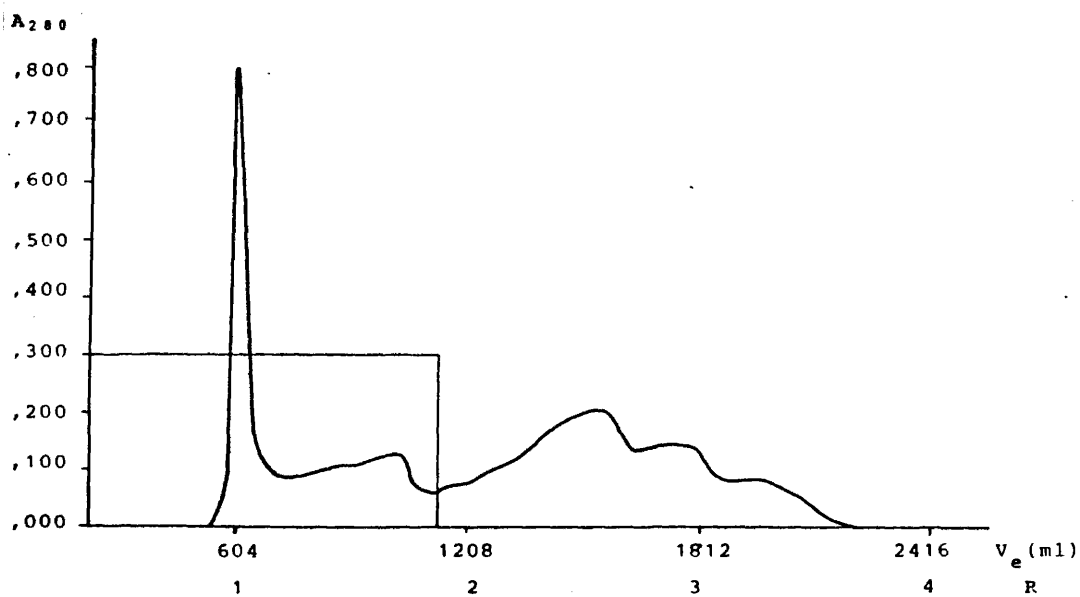


Figura 5.12. Cromatograma de LN-01

Muestra: Volumen inyectado: 1 ml

Concentración: 10% de L.N. original

Eluyente: 2 g/l NaCl + 0,2 g/l NaN_3 en agua destil.

Caudal: 2 ml/min.

Columna: Relleno: Sephadex G-75 M.

Altura: 1 m

$V_0 = 604$ ml

Detector: UV a 280 nm

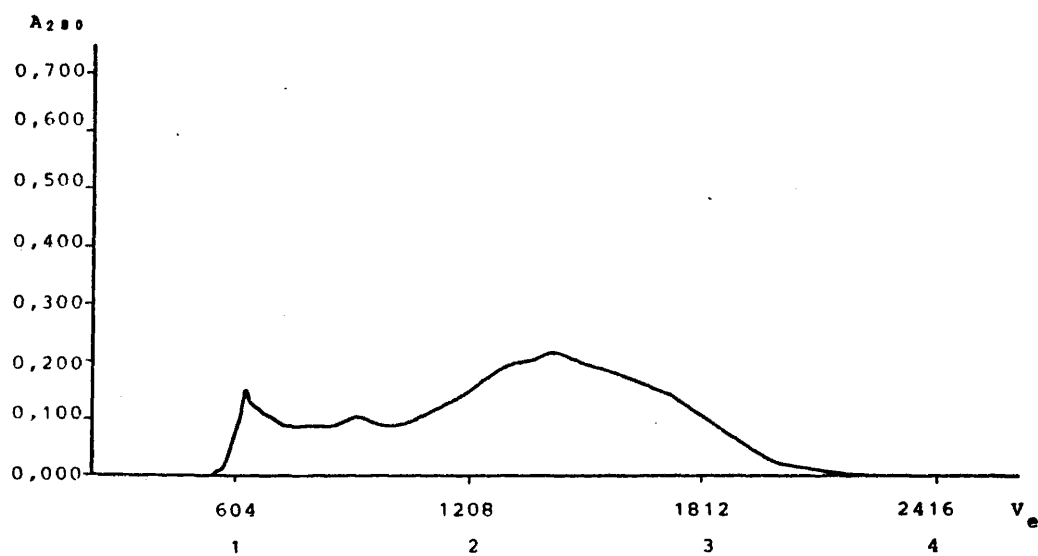


Figura 5.13. Cromatograma de EW

Muestra: Vol. inyectado: 1 ml.

Concentración: 10% de L.N. original

Eluyente: 2 g/l NaCl + 0,2 g/l NaN₃ en agua dest.

Caudal: 2 ml./min.

Columna: Relleno: Sephadex G-75 M.

Altura: 1 m.

V₀ : 604 ml.

Detector: U.V. a 280 nm.

Una parte de la Figura 5.12 que corresponde a los compo-
nentes de mayor masa se analizan en la Figura 5.14.

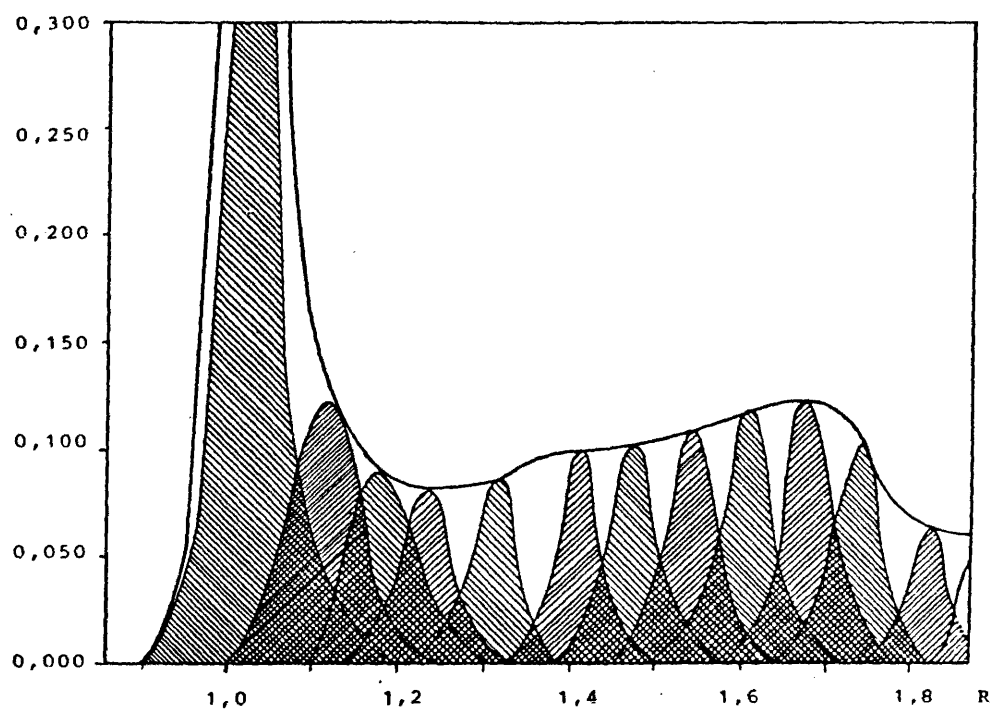


Figura 5.14. Detalle de la Figura V.12 mostrándose el fraccionamiento de los componentes de mayor masa molecular.

Una separación por filtración sobre gel puede ser considerada como una línea sucesiva si los datos analíticos de las fracciones de eluyente ofrecen un diagrama de elución en el que los componentes de la solución ensayada dan, aislados, curvas de tipo campana (Figura 5.15 (a)).

A menudo, no se obtiene una separación completa de la mezcla y la curva de elución es una línea continua formada por la superposición de los componentes de la mezcla (Figura 5.15 (b)). En todos los casos los "picos" observados en el diagrama de elución pueden no ser genuinos y dar lugar a interpretaciones erróneas (Figura 5.15 (c)). Ahora bien, si la mezcla consiste en miembros de una serie homóloga es posible realizar una interpretación correcta del diagrama de elución (52,67,82).

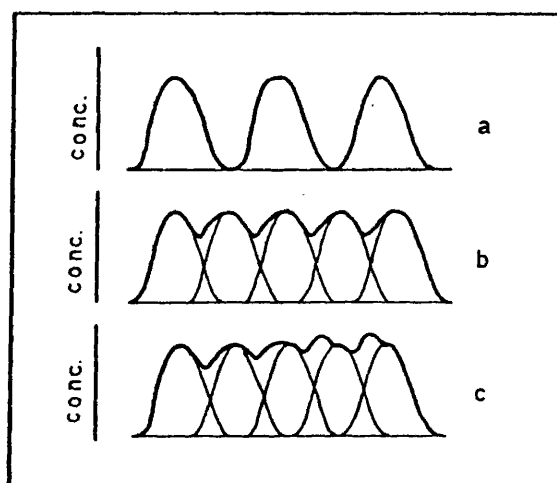


Figura 5. 15. Separaciones cromatográficas de una mezcla.

En la observación de los cromatogramas (figuras 5.12 y 5.13) se puede seguir el desarrollo de los componentes de naturaleza lignínica sobre los demás, por ser aquellos los detectables por absorción de luz en 280 nm sobre los componentes de naturaleza holocelulósica.

Comparando dichos cromatogramas puede comprobarse que el intervalo de elución para ambos es prácticamente el mismo, sin embargo en la distribución de los componentes de naturaleza lignínica según su tamaño se observa una reducción muy apreciable del grado de polimerización de los mismos en la fracción EW (Figura 5.13) frente al que inicialmente presentan en la lejía negra diluida (Figura 5.12), el pico elevado que aparece en $R = 1$ del cromatograma de LN-01 (moléculas de masa molecular muy alta) se encuentra muy reducido en el cromatograma de la fracción EW, repartiéndose a lo largo de todo el intervalo de elución.

De la consideración conjunta de los espectrogramas (figuras 5.1 a 5.9) y cromatogramas (figuras 5.12 y 5.13) obtenidos puede deducirse:

1°) Los componentes que inicialmente hay presentes en las lejías negras, en su mayor parte de naturaleza lignínica, poseen un elevado G.P. a los que puede atribuirse un peso molecular comprendido entre 40.000 y 70.000 u.m.a..

2°) Con los disolventes empleados en las extracciones realizadas se logran separar los componentes con bajo peso molecular, a la vez que se produce una despolimerización de las ligninas a tamaños menores, debido probablemente a la ruptura de enlaces tipo éter por alguno de los agentes de extracción en caliente.

V.1.2. ANALISIS DE PRODUCTOS SULFURADOS.

Se realizaron ensayos con tres lejías negras de diferentes cocciones obtenidas en el laboratorio (LN-02, LN-03 y LN-04) y una suministrada por la E.N.C.E. (LNI.), determinándose la cantidad de sulfuros y mercaptanos, de acuerdo con el método descrito en el apartado IV.3.2.2.3. Cada muestra de lejía negra se diluyó con agua destilada hasta un volumen final igual al de la disolución de sosa y sulfuro sódico empleada en la cocción.

En la Tabla V.2 se recogen los datos relativos a cada lejía, señalándose las concentraciones molares de sulfuros, como Na_2S en la lejía blanca inicial, CdS recogido correspondiente a sulfuros en la lejía negra, y CdS correspondiente a mercaptanos.

Tabla V.2

| Determinación conjunta de sulfuros y mercaptanos | | | | | |
|--|------|-----------------|-------------------------|-------------|-------|
| Lejía de estudio | pH | sól. tot. (g/l) | $\text{S}^=$ (mol/lit.) | | |
| | | | lejía blanca | lejía negra | |
| | | | | sulf. | merc. |
| LN-02 | 12,7 | 139,5 | 0,6875 | 0,6050 | - - - |
| LN-03 | 13,2 | 133,5 | 0,6875 | 0,6504 | - - - |
| LN-04 | 12,6 | 141,0 | 0,6875 | 0,6663 | - - - |
| LNI | 13,1 | 123,0 | 1,0406 | 0,9594 | - - - |

En todos los ensayos se recogieron cantidades considerables de CdS en el primer tubo (sulfuros) mientras que en el segundo (mercaptanos) no se apreciaron siquiera indicios, inclusive después de dejarlo en reposo durante dos días. El precipitado recogido en el primer frasco, expresado como Na_2S , correspondía al 88-94% del sulfuro sódico inicialmente presente en la lejía blanca. Considerando que parte del sulfuro puede perderse en los gases de alivio del digestor, y que parte del mismo puede quedar retenido por la pasta, el sulfuro determinado podría muy bien corresponder al total presente inicialmente en la lejía utilizada en la cocción.

Para comprobar este extremo se determinó el contenido total de azufre en las lejías de partida por el procedimiento recomendado por el PPRIC (39) descrito en el Apartado IV.3.2.2.1.

Tabla V.3

| Determinación del contenido total de azufre | | | | |
|---|-------|-------|-------|-------|
| Lejía | LN-03 | LN-04 | LN-06 | LNI-1 |
| S total (g/l) | | | | |
| 1 ^a determ. | 20,00 | 18,95 | 20,16 | 29,90 |
| 2 ^a determ. | 19,82 | 21,00 | 20,70 | 31,00 |
| 3 ^a determ. | 18,64 | 20,80 | 21,60 | 30,30 |
| 4 ^a determ. | 20,74 | 19,90 | 21,60 | 30,00 |
| 5 ^a determ. | --- | 21,15 | 21,44 | --- |
| Media | 19,80 | 20,36 | 21,10 | 30,30 |
| Desv. típica | 0,870 | 0,926 | 0,644 | 0,497 |
| <u>S (v.med)</u> (%) | 90,00 | 92,55 | 95,91 | 90,91 |
| S inicial | | | | |

Los valores obtenidos, que recoge la Tabla V.3, representan en todos los casos el 90-96% del azufre presente en la lejía blanca utilizada en la cocción.

Los resultados obtenidos parecen indicar la ausencia de mercaptanos, aunque tal conclusión requiere una confirmación más explícita. Con este fin se realizó una cocción de lignina de E. Globulus, obtenida según la Norma Tappi T-13 OS-54, en idénticas condiciones que las cocciones de madera de esta misma especie, origen de las lejías negras ensayadas (véase Tabla IV.1), a excepción del hidromódulo que fué, en este caso, 7:1.

La lejía obtenida se trató con acetato mercurico, separándose por precipitación la tiolignina de la álcalilignina, que queda en disolución. El precipitado se disolvió con NaOH 12 N hasta un pH final de 10,3 y la disolución se acidificó después a pH 4,6 en baño de agua a 80°C, obteniéndose un precipitado coloidal, que se lavó y secó en estufa a 90°C. Esta fracción así obtenida se identifica mediante las letras TL.

Una porción de 1,5 g de TL se oxidó mediante disolución de H_2O_2 en ácido acético-anhidrido acético (3 ml de H_2O_2 del 30% + 15 ml de ácido acético + 15 ml de anhidrido acético) en baño de hielo a 0°C durante 12 horas, secando posteriormente el producto en un desecador con cloruro cálcico anhidro a temperatura ambiente durante 3 días. El residuo se lavó y secó de nuevo, rindiendo 0,950 g. Esta fracción oxidada se identifica como TLO.

La álcali-lignina que quedó en disolución tras la adición del acetato mercurico se precipitó con ácido sulfúrico concentrado hasta pH = 3,6, se filtró, lavó y secó en estufa a 90°C

durante 18 horas, extrayéndose después con dioxano y evaporando el disolvente en estufa a 105°C hasta pesada constante. Se denominó fracción AL.

En las tres fracciones separadas se realizó el ensayo de Feigl para determinar mercaptanos.

Se prepararon disoluciones de las fracciones TL, TLO y AL al 5% y 10% en dioxano y se mezclaron con volúmenes iguales del reactivo de Feigl, no apareciendo precipitado sólido en ningún ensayo. Todos los ensayos resultaron negativos.

Por otro lado se prepararon pastillas con bromuro potásico de las fracciones TL, TLO y AL para determinar sus espectros IR en fase sólida, entre los números de onda de 500 a 4.000 cm^{-1} . En todos los casos las pastillas de KBr contenían un 0,5% de la muestra a examen.

Los espectrogramas resultantes pueden verse en las figuras 5.16, 5.17 y 5.18.

Observando los espectrogramas de las tres fracciones puede apreciarse la ausencia de bandas en el intervalo de 2.400 a 2.600 cm^{-1} , lo que descarta la existencia de tioles.

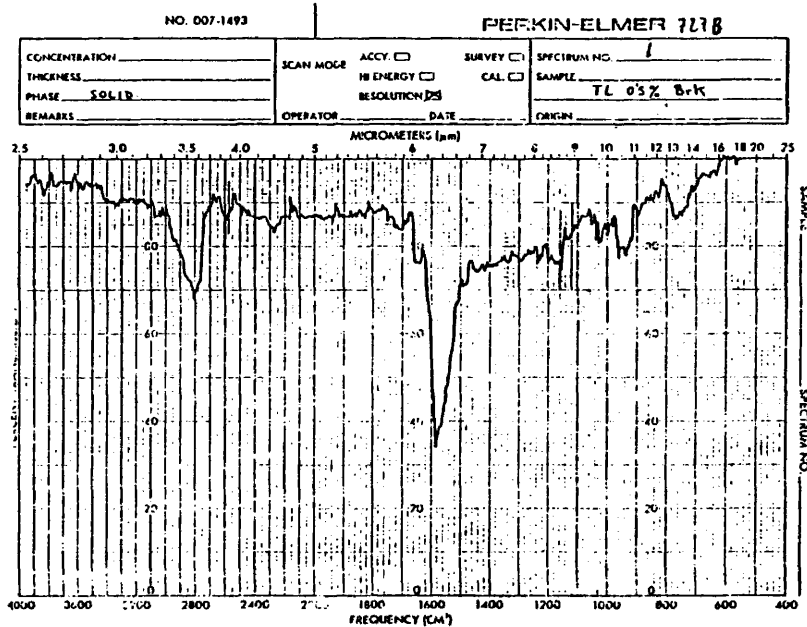


Figura 5.16. Espectrograma IR de la fracción TL

Para la fracción TL se puede apreciar una banda a 1.050 cm^{-1} , que disminuye en el espectrograma de la fracción oxidada de tioligninas (TLO), que parece indicar la presencia de grupos sulfoxido en la tiolignina que se transforman a unas formas mas oxidadas, tales como sulfonas, durante la oxidación de la misma.

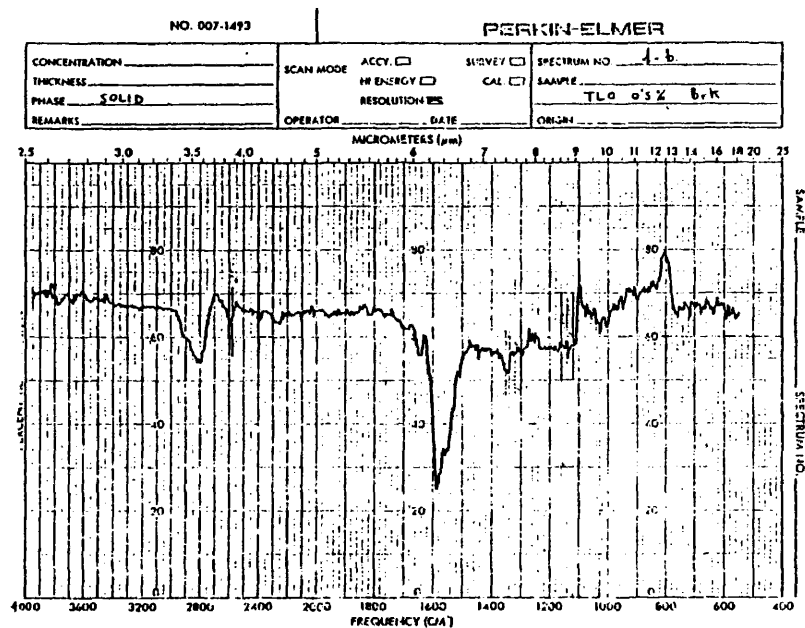


Figura 5.17. Espectrograma IR de la fracción TLO

En la fracción TL se observa una banda de absorción débil a 1.340 cm^{-1} que aparece mas acusada en la fracción TLO a 1.345 cm^{-1} , pudiéndose atribuir a la formación de grupos $\text{-SO}_2\text{-}$ (sulfonas) durante la oxidación, consecuente con la desaparición de grupos -SO- (sulfóxidos) antes indicada.

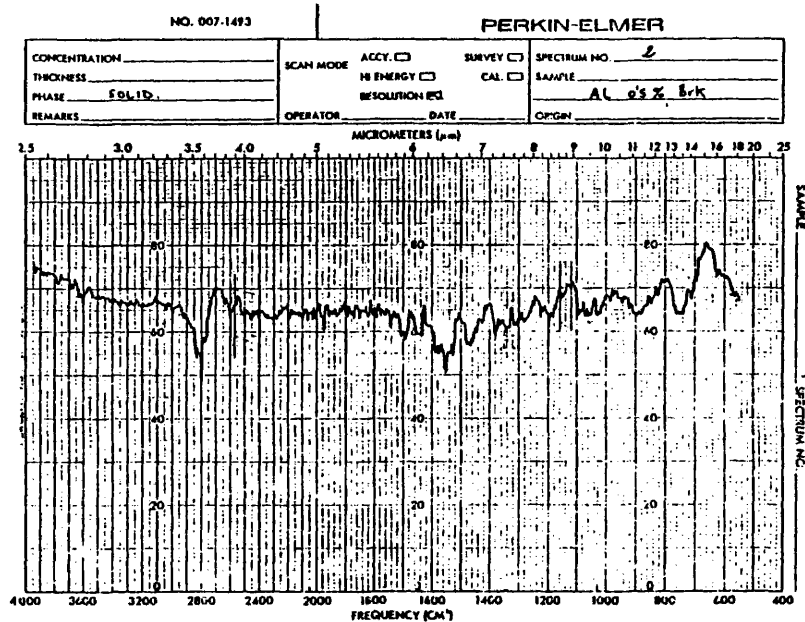


Figura 5.18. Espectrograma IR de la fracción AL.

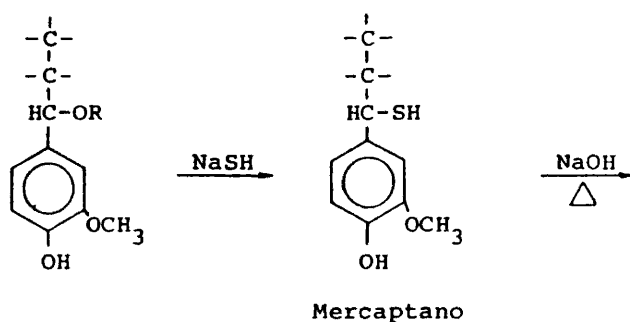
La fracción AL presenta pequeñas bandas a 1.030 cm^{-1} , $1.040\text{--}1.060\text{ cm}^{-1}$ y $1.330\text{--}1.360\text{ cm}^{-1}$ debidas probablemente a la presencia de grupos sulfóxidos y sulfonas en porciones de tioliginas no precipitadas con el catión Hg^{+2} , en tanto que puede descartarse la presencia de mercaptanos.

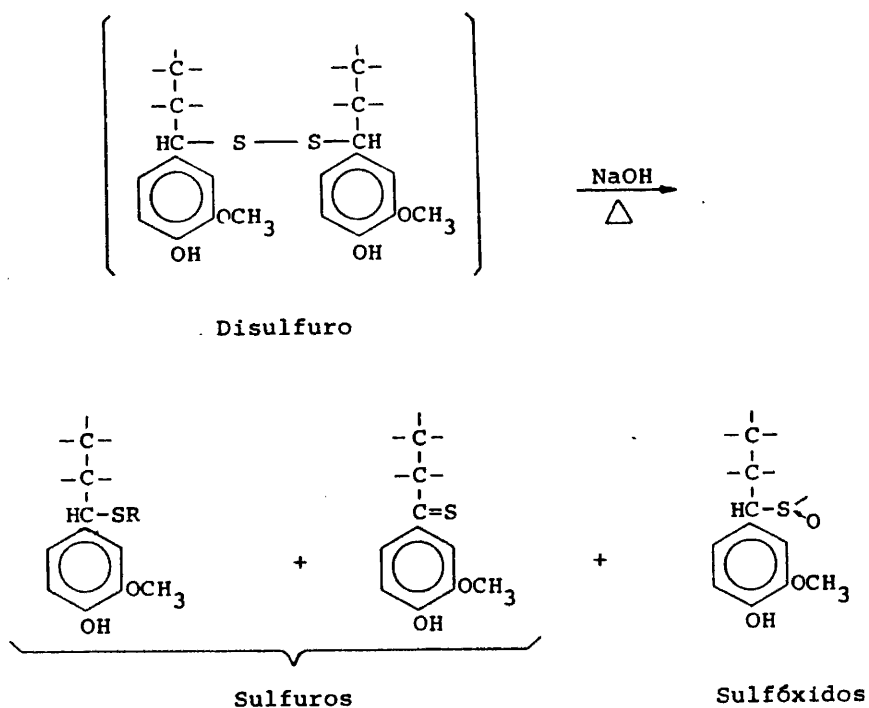
V.1.2.1. Aproximación al mecanismo de solubilización de la lignina por el proceso al sulfato.

Los resultados analíticos obtenidos para las lejías negras resultantes del proceso de cocción parecen indicar que el mecanismo de disolución de la lignina por el método al sulfato difiere en ciertos aspectos del descrito en el apartado III.2.3.1, admitido como mas probable en la bibliografía.

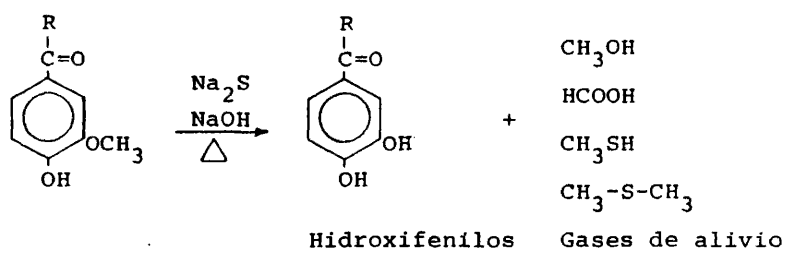
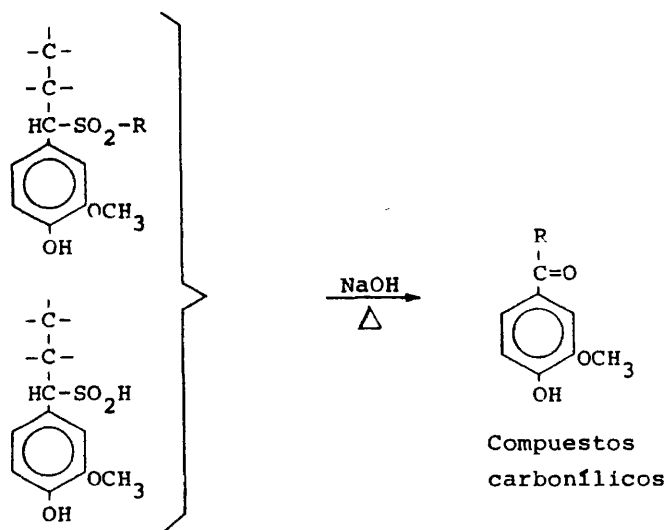
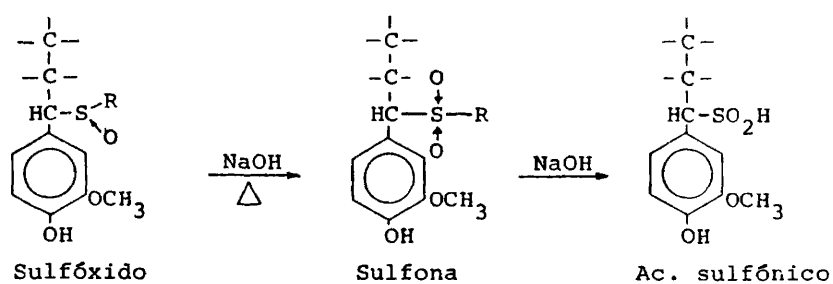
La formación de la tiolignina podría tener lugar como sigue:

Durante la etapa de calentamiento, los grupos -OR del carbono alfa de la cadena propílica son sustituidos por grupos mercaptano, inestables en medio alcalino, descomponiéndose en sulfuros orgánicos y sulfóxidos por oxidación de los sulfuros formados. Durante esta primera etapa podrían originarse disulfuros como posible paso intermedio, por deshidrogenación de los mercaptanos iniciales, que evolucionarían a la formación de sulfuros, liberando azufre lábil, que se asociaría a otras moléculas de tiolignina. Las reacciones iniciales en la formación de tiolignina podrían ser, por tanto:





Los sulfóxidos formados continuarían su proceso de oxidación por el álcali caliente originando sulfonas, con la posible formación de ácidos sulfónicos y sus sales sódicas. Las sulfonas y sulfonatos originados a partir de las mismas, junto con los sulfuros, en presencia de NaOH producen los correspondientes compuestos carbonílicos, parte de los cuales evolucionarían, en presencia de Na_2S y NaOH, hacia la formación de hidroxifenilos, con la ruptura del radical metoxílico, que conduciría a la liberación de compuestos de bajo peso molecular y gran volatilidad, tales como metanol, ácido fórmico, metano-tiol y sulfuro de dimetilo, que escaparían en los gases de alivio del digestor, siendo estos últimos compuestos los causantes de los malos olores de la lejía recién preparada. El mecanismo de esta última etapa podría esquematizarse como sigue:



La lejía negra recién preparada presenta un olor desagradable e intenso al principio que va desapareciendo paulatinamente, resultando poco perceptible transcurridas las primeras doce horas. Este olor sería atribuible a las sustancias volátiles que se liberan en los gases de alivio y en la descarga del digestor, cuando la lejía negra se encuentra aún caliente, tales como sulfuros orgánicos de bajo peso molecular, ácido sulfhídrico y quizás metilmercaptano y etilmercaptano formados en la última etapa y detectables por el olfato humano en concentraciones inferiores a 0,08 ppm.

Los mercaptanos ligeros presentes en la lejía negra serían los únicos formados durante el proceso de cocción como resultado de la desmetoxilación de las unidades de lignina, pero de acuerdo con los ensayos realizados no parecen existir grupos mercaptano en la tiolignina resultante del proceso de cocción.

Estos mercaptanos tienen una solubilidad superior que la de los compuestos orgánicos afines, de aquí la persistencia del olor de las lejías por espacio de cierto tiempo; por otra parte, no quedan retenidos en el coloide lignínico tras la precipitación con ácido, sino que, por el contrario, se desprenden al disminuir su solubilidad por acidulación, al desplazarse el equilibrio de tiolatos a la forma tiol.

V.2. COMPOSICION DEL EFLUENTE RESULTANTE DEL TRATAMIENTO DE
COAGULACION Y FLOCULACION.

Como ya se ha indicado, la primera etapa del tratamiento propuesto por Vian y colaboradores (23) consiste en la coagulación y floculación del coloide lignínico con ácido sulfúrico hasta un pH final de 3,5 a 4.

Para obtener resultados representativos y comparables en los distintos ensayos todas las muestras preparadas se llevaron al mismo valor de pH, que fué de 7,2 por ser el requerido en las medidas de DBO.

A continuación se relacionan las diferentes muestras o fracciones objeto de análisis:

1) Lejía negra diluída hasta una concentración igual al 10% de la original y neutralizada con ácido sulfúrico hasta pH = 7,2 (LN-01.1/10). Esta fracción es la misma que se indicó en el apartado V.1.1.

2) Lejía filtrada: Preparada a partir de la anterior, por adición de H_2SO_4 hasta pH = 3,4 y posterior neutralización hasta pH = 7,2 de la lejía después de separar por filtración a vacío el precipitado resultante tras la adición de ácido. Se diluyó hasta una concentración 10% de la lejía negra original. Se denomina LF-1.

3) Solución lignínica: Obtenida por redisolución del precipitado anterior en disolución de bicarbonato sódico e hidróxido sódico, ajuste del pH a 7,2 y dilución con agua destilada hasta el mismo grado que las dos anteriores (10% con respecto a la lejía negra original). Le corresponde la notación LP-1.

La Tabla V.4 recoge algunas de las características de cada una de las fracciones indicadas.

Tabla V.4

| Características de las fracciones analizadas en la primera etapa del tratamiento. | | | |
|--|----------------------|---------------------|--------------|
| Fracción | sól. total. (g/l) | sól. fijos (g/l) | DBO (ppm) |
| LN-01.1/10 | 13,55 | 3,90 | 1.300 |
| LF-1 | 18,85 | 11,65 | 1.300 |
| LP-1 | 19,10 | 11,90 | 230 |

En primer lugar se obtuvieron los espectrogramas UV de cada una de las tres fracciones indicadas, utilizando agua como blanco de referencia. Para ello se diluyeron previamente las muestras hasta un grado final equivalente al 0,2% de la lejía negra original, por ser esta la dilución empleada para la obtención del correspondiente espectrograma de la lejía negra en cuestión, que ya quedó recogido en la sección anterior (Figura 5.1). En las figuras 5.19 y 5.20 se pueden observar los espectrogramas de la lejía filtrada (LF-1) y del precipitado lignínico redisoluto (LP-1).

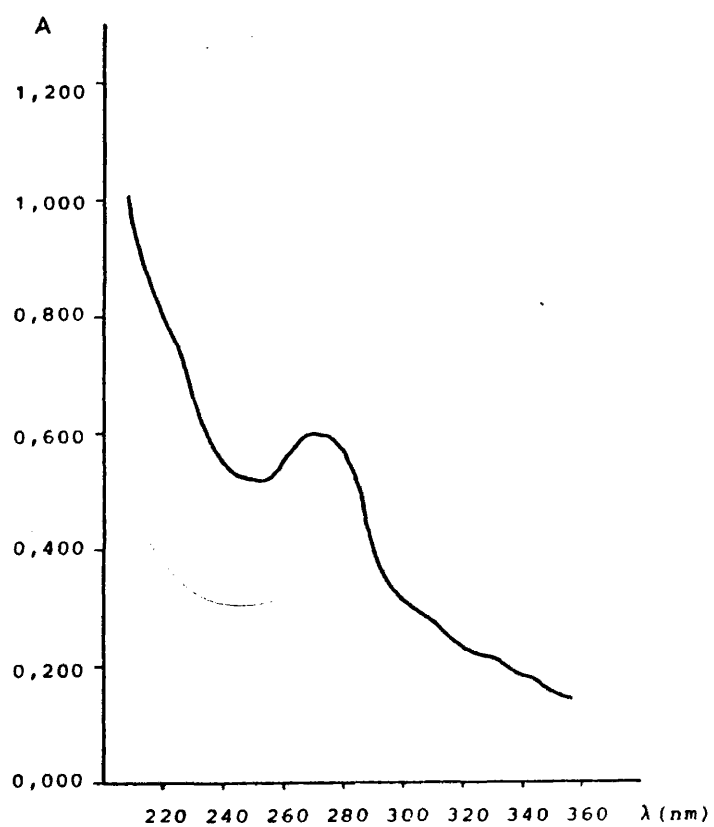


Figura 5.19. Espectrograma UV de LF-1.
concentración: 0,2% respecto de
la lejía negra original.
pH = 7,2.

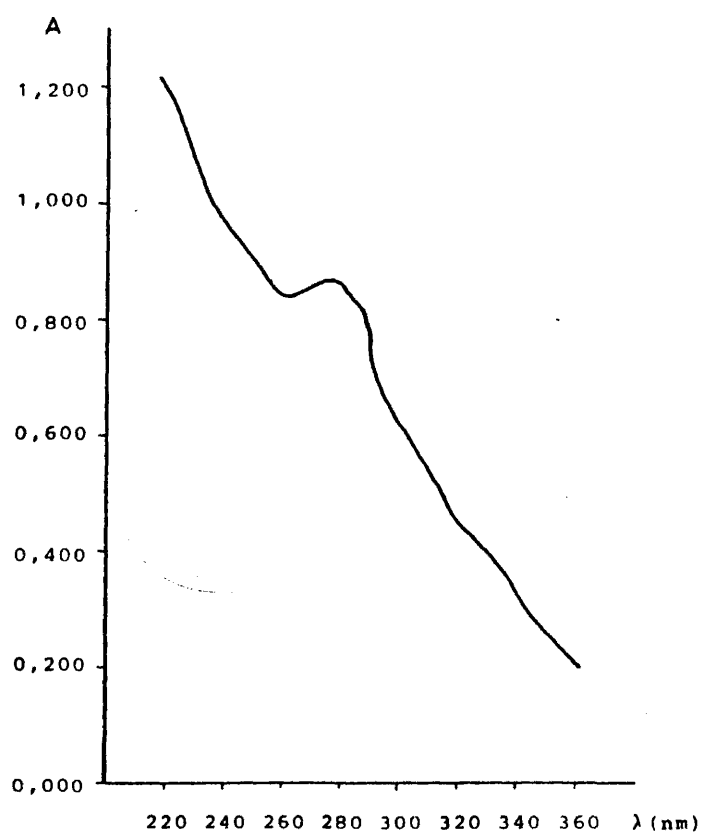


Figura 5.20. Espectrograma UV de LP-1.
concentración: 0,2% respecto de
la lejía negra original.
pH = 7,2.

Comparando el espectrograma obtenido para la fracción LF-1 (Figura 5.19) con el correspondiente a la lejía negra (Figura 5.1) se observa una disminución de la absorbancia en todo el intervalo de longitudes de onda ensayado, siendo mas acusada a longitudes de onda inferiores a los 270 nm. Igualmente, se puede observar la existencia de un máximo a los 270 nm.

Por su parte, el espectro de la fracción LP-1 (Figura 5.20) es prácticamente coincidente con el de la lejía negra original (Figura 5.1) a longitudes de onda por encima de los 283 nm. Por debajo de los 283 nm se aprecia cierta disminución, aunque no muy acusada, de la absorbancia. Se observa un máximo de absorbancia a los 278 nm.

Como ya se ha indicado, el tratamiento con ácido sulfúrico produce la coagulación y floculación del coloide lignínico, que encontraríamos en la fracción LP-1. El desarrollo de los espectros UV de las fracciones LF-1 y LP-1, parecen indicar una precipitación incompleta de los componentes de naturaleza lignínica (observese el máximo de absorbancia a 270 nm de la figura 5.19) quedando en disolución probablemente los de menor masa molecular o los que pudieran tener mayor fuerza iónica.

Esta hipótesis ha de ser confirmada mediante otros ensayos, ya que el espectrograma UV no permite, por si solo, adelantar como seguras las consideraciones anteriores. A fin de completar el estudio sobre los componentes de naturaleza lignínica, se cromatografiaron muestras de las fracciones LF-1 y LP-1 en las mismas condiciones indicadas en el apartado V.1.1. Los cromatogramas obtenidos, representando la absorbancia a 280 nm frente a V_e y R, se muestran en las Figuras 5.21 y 5.22.

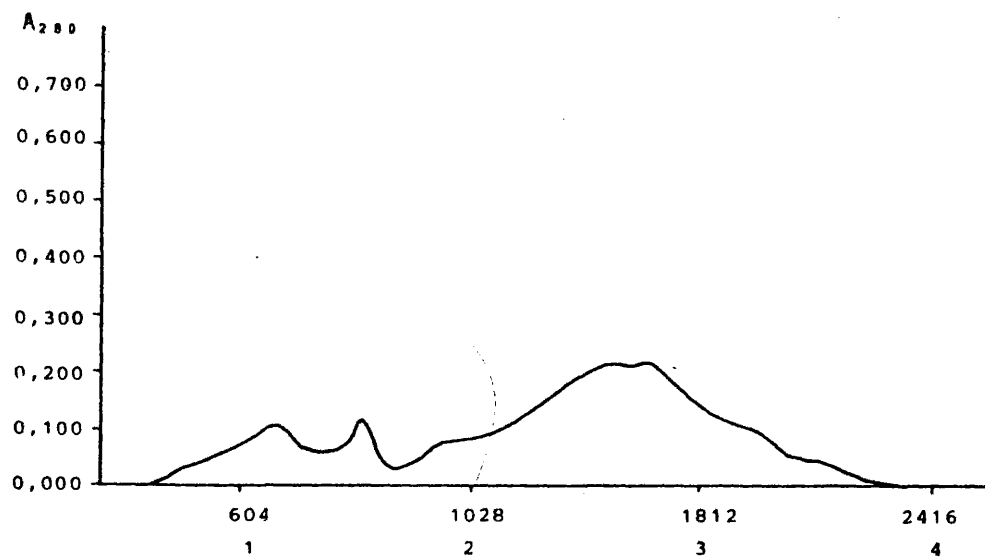


Figura 5.21. Cromatograma de la fracción LF-1

Muestra: volumen inyectado: 1 ml.

concentración: 10% sobre LN original

Eluyente: 2 g/l NaCl + 0,2 g/l NaN₃ en agua dest.

caudal: 2 ml./min.

Columna: relleno: Sephadex G-75 M.

altura: 1 m.

V₀: 604 ml.

Detector: U.V. a 280 nm.

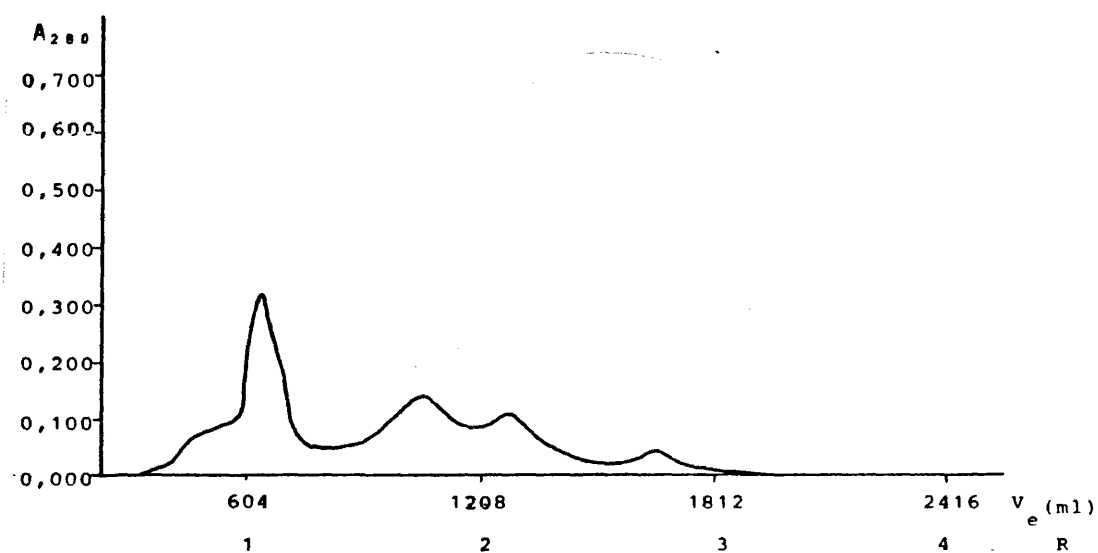


Figura 5.22. Cromatograma de la fracción LP-1

Muestra: volumen inyectado: 1 ml:

concentración: 10% sobre LN original

Fluyente: 2 g/l NaCl + 0,2 g/l NaN_3 en agua dest.

caudal: 2 ml./min.

Columna: relleno: Sephadex G-75 M.

altura: 1 m.

V_0 : 604 ml.

Detector: U.V. a 280 nm.

Comparando los cromatogramas de las fracciones LF-1 (Figura 5.21) y LP-1 (Figura 5.22) con el obtenido para la lejía de partida LN-01.1/10 (Figura 5.12) se observa:

1°) En la fracción LF-1 queda una cantidad considerable de componentes detectables a 280 nm con pesos moleculares comprendidos en un intervalo similar al de la lejía original, pero los de elevado peso molecular han quedado muy reducidos. Esta observación viene a confirmar la hipótesis indicada en la consideración del espectrograma UV de esta fracción, de que el tratamiento con ácido sulfúrico no eliminaba totalmente los componentes de naturaleza lignínica, quedando en disolución los de menor peso molecular.

2°) La fracción LP-1 (Figura 5.22) presenta un cromatograma próximo al que daría la diferencia entre los de la lejía de partida (Figura 5.12) y la fracción LF-1 (Figura 5.21) pero con una variación apreciable en cuanto a la cantidad de componentes que tienen elevado peso molecular. Se comprueba que los componentes de naturaleza lignínica de la fracción LP-1 presentan un peso molecular medio superior a los de la fracción LF-1, pero no aparece un pico tan elevado como el presentado por la lejía negra LN-01.1/10 (Figura 5.12) para $R = 1$. Todo ello indica que al producir la floculación y precipitación del coloide lignínico se origina una ruptura parcial de las macromoléculas iniciales de lignina, presentes en la lejía negra, por hidrólisis en medio ácido.

Los ensayos realizados hasta el momento solo permiten considerar el comportamiento de los componentes lignínicos en la primera etapa del tratamiento, y no de una manera tan precisa como fuera de desear.

Para obtener una información mas completa sobre los componentes de cada fracción, además de los de naturaleza lignínica, se procedió a la determinación de otras propiedades en las fracciones del eluido que abandona la columna de fraccionamiento. Para ello y dado que el tiempo requerido para la realización de los ensayos anteriores y los que siguen resulta excesivo para conservar las aguas estudiadas sin que estas sufran alteraciones importantes, se utilizaron sendas muestras analogas a las anteriores y preparadas en las mismas condiciones; la lejía de partida se identifica en este caso como LN-05 y las tres fracciones objeto de análisis LN-05.1/10, LF-2 y LP-2. La Tabla V.5 recoge el contenido en sólidos y la DBO de las citadas fracciones.

Tabla V.5

| Características de las fracciones sometidas a cromatografía mediante Sephadex, en el estudio de la primera etapa del tratamiento. | | | |
|---|---------------------|--------------------|--------------|
| Fracción | sól.total. (g/l) | sól.fijos (g/l) | DBO (ppm) |
| LN-05.1/10 | 13,72 | 3,97 | 1.560 |
| LF-2 | 19,00 | 11,81 | 1.500 |
| LP-2 | 18,96 | 11,75 | 190 |

En el eluido se midió directamente la absorbancia a 280 nm, y se recogieron fracciones de 5 en 5 ml, en cada una de las cuales se realizaron determinaciones del contenido en materia seca, la DQO, el índice de metoxilos y la diferencia de resistividad respecto al eluyente, valores que recogen las Tablas V.6, V.7 y V.8 para las muestras LN-05.1/10, LF-2 y LP-2, respectivamente.

La Figura 5.23 recoge, conjuntamente, el desarrollo de los cromatogramas correspondientes a cada una de las tres fracciones analizadas y para cada una de las propiedades estudiadas, lo que permite visualizar de forma gráfica la situación tras la primera etapa del tratamiento.

Tabla V.6

| Resultados obtenidos en el eluido de la fracción LN-05.1/10 | | | | | |
|--|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
| 501 - 505 | 0,672 | 0,000 | | | |
| 506 - 510 | 0,679 | | 0 | | 0 |
| 511 - 515 | 0,686 | | | 0 | |
| 516 - 520 | 0,693 | 0,010 | | | |
| 521 - 525 | 0,700 | | 210 | | 60 |
| 606 - 610 | 0,812 | | | 0 | |
| 620 - 625 | 0,833 | 0,360 | | | |
| 661 - 665 | 0,880 | | 1248 | | 398 |
| 666 - 670 | 0,893 | | | 199 | |
| 671 - 675 | 0,900 | 0,873 | | | |
| 676 - 680 | 0,907 | | 1880 | | 420 |
| 691 - 695 | 0,924 | | | 150 | |
| 701 - 705 | 0,940 | 0,600 | | | |
| 716 - 720 | 0,960 | | 1094 | | 260 |
| 731 - 735 | 0,979 | | | 35 | |
| 736 - 740 | 0,986 | 0,395 | | | |
| 766 - 770 | 1,027 | | 1120 | | 186 |
| 781 - 785 | 1,036 | | | 33 | |
| 801 - 805 | 1,073 | 0,275 | | | |
| 816 - 820 | 1,093 | | 1056 | | 180 |
| 831 - 835 | 1,113 | | | 30 | |
| 851 - 855 | 1,141 | 0,233 | | | |

(continúa)

(Tabla V.6, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.O.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|------------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 866 - 870 | 1,160 | | 992 | | 186 |
| 881 - 885 | 1,180 | | | 26 | |
| 901 - 905 | 1,205 | 0,210 | | | |
| 916 - 920 | 1,227 | | 998 | | 188 |
| 966 - 970 | 1,293 | | | 22 | |
| 971 - 975 | 1,300 | 0,180 | | | |
| 981 - 985 | 1,313 | | 941 | | 193 |
| 991 - 995 | 1,327 | | | 20 | |
| 1005 -1010 | 1,343 | 0,159 | | | |
| 1016 -1020 | 1,360 | | 979 | | 196 |
| 1031 -1035 | 1,380 | | | 20 | |
| 1051 -1055 | 1,404 | 0,143 | | | |
| 1066 -1070 | 1,427 | | 992 | | 199 |
| 1081 -1085 | 1,443 | | | 17 | |
| 1096 -1100 | 1,480 | 0,130 | | | |
| 1111 -1115 | 1,487 | | 922 | | 198 |
| 1141 -1145 | 1,527 | | | 15 | |
| 1146 -1150 | 1,533 | 0,120 | | | |
| 1166 -1170 | 1,560 | | 1062 | | 195 |
| 1191 -1195 | 1,593 | | | 16 | |
| 1216 -1220 | 1,627 | 0,113 | | | |
| 1241 -1245 | 1,660 | | 1050 | | 192 |
| 1296 -1300 | 1,730 | | | 17 | |
| 1336 -1340 | 1,786 | 0,105 | | | |
| 1341 -1345 | 1,793 | | 1040 | | 200 |
| 1346 -1350 | 1,800 | | | 17 | |
| 1491 -1495 | 1,993 | 0,150 | | | |
| 1496 -1500 | 2,000 | | 964 | | 225 |
| 1541 -1545 | 2,060 | | | 7 | |
| 1636 -1640 | 2,187 | 0,450 | | | |
| 1641 -1645 | 2,193 | | 928 | | 252 |
| 1646 -1650 | 2,200 | | | 10 | |

(continúa)

(Tabla V.6, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 1711-1715 | 2,286 | 0,315 | | | |
| 1716-1720 | 2,293 | | 1280 | | 271 |
| 1721-1725 | 2,300 | | | 20 | |
| 1736-1740 | 2,321 | 0,816 | | | |
| 1741-1745 | 2,327 | | 1048 | | 288 |
| 1746-1750 | 2,334 | | | 14 | |
| 1776-1780 | 2,373 | 0,700 | | | |
| 1811-1815 | 2,420 | | 1320 | | 280 |
| 1841-1845 | 2,460 | | | 9 | |
| 1856-1860 | 2,477 | 0,550 | | | |
| 1866-1870 | 2,493 | | 1300 | | 275 |
| 1891-1895 | 2,523 | | | 7 | |
| 1911-1915 | 2,554 | 0,400 | | | |
| 1916-1920 | 2,560 | | 1215 | | 342 |
| 1936-1940 | 2,596 | | | 6 | |
| 1951-1955 | 2,604 | 0,334 | | | |
| 1966-1970 | 2,627 | | 1060 | | 395 |
| 1976-1980 | 2,640 | | | 5 | |
| 1986-1990 | 2,653 | 0,296 | | | |
| 1996-2000 | 2,667 | | 720 | | 247 |
| 2006-2010 | 2,680 | | | 5 | |
| 2016-2020 | 2,693 | 0,280 | | | |
| 2021-2025 | 2,700 | | 680 | | 278 |
| 2066-2070 | 2,760 | | | 4 | |
| 2091-2095 | 2,793 | 0,272 | | | |
| 2101-2105 | 2,807 | | 640 | | 318 |
| 2141-2145 | 2,860 | | | 4 | |
| 2166-2170 | 2,893 | 0,265 | | | |
| 2176-2180 | 2,906 | | 622 | | 323 |
| 2191-2195 | 2,927 | | | 3 | |
| 2236-2240 | 2,987 | 0,238 | | | |
| 2241-2245 | 2,993 | | 600 | | 320 |

(continúa)

(Tabla V.6, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 2251-2255 | 3,006 | | | 2 | |
| 2261-2265 | 3,020 | 0,231 | | | |
| 2271-2275 | 3,033 | | 535 | | 168 |
| 2276-2280 | 3,040 | | | 2 | |
| 2281-2285 | | 0,225 | | | |
| 2321-2325 | 3,100 | | 464 | | 111 |
| 2356-2360 | 3,146 | | | 1 | |
| 2391-2395 | 3,194 | 0,145 | | | |
| 2396-2400 | 3,200 | | 404 | | 103 |
| 2401-2405 | 3,207 | | | 2 | |
| 2436-2440 | 3,253 | 0,118 | | | |
| 2471-2475 | 3,300 | | 505 | | 96 |
| 2481-2485 | 3,314 | | | 1 | |
| 2546-2550 | 3,400 | 0,089 | | | |
| 2621-2625 | 3,500 | | 105 | | 66 |
| 2626-2630 | 3,506 | | | 1 | |
| 2696-2700 | 3,600 | 0,012 | | | |
| 2771-1775 | 3,700 | | 80 | | 69 |
| 2776-2780 | 3,707 | | | 0 | |
| 2846-2850 | 3,800 | 0,010 | | | |
| 2851-2855 | 3,807 | | 40 | | 42 |
| 2871-1875 | 3,833 | | | 1 | |
| 2896-2900 | 3,867 | 0,008 | | | |
| 2921-2925 | 3,900 | | 12 | | 2 |
| 2961-2965 | 3,952 | | | 0 | |
| 2995-3000 | 4,000 | 0,007 | | | |

Tabla V.7

| Resultados obtenidos en el eluido de la fracción LF-2 | | | | | |
|---|-----------|------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- ($\mu\text{g/l}$) | $\Delta\text{Resis.}$ (ohm.cm) |
| 956- 960 | 1,330 | 0,000 | | | |
| 961- 965 | 1,337 | | 0 | | 0 |
| 966- 970 | 1,343 | | | 0 | |
| 971- 975 | 1,348 | 0,243 | | | |
| 981- 985 | 1,365 | | 400 | | 152 |
| 996-1000 | 1,384 | | | 5 | |
| 1021-1025 | 1,418 | 0,405 | | | |
| 1041-1045 | 1,446 | | 352 | | 149 |
| 1046-1050 | 1,455 | | | 6 | |
| 1051-1055 | 1,463 | 0,398 | | | |
| 1061-1065 | 1,476 | | 368 | | 158 |
| 1071-1075 | 1,491 | | | 8 | |
| 1096-1100 | 1,525 | 0,202 | | | |
| 1126-1130 | 1,564 | | 432 | | 110 |
| 1176-1180 | 1,635 | | | 9 | |
| 1226-1230 | 1,707 | 0,149 | | | |
| 1231-1235 | 1,713 | | 420 | | 120 |
| 1251-1255 | 1,742 | | | 12 | |
| 1276-1280 | 1,778 | 0,092 | | | |
| 1281-1285 | 1,782 | | 332 | | 152 |
| 1301-1305 | 1,810 | | | 14 | |
| 1326-1330 | 1,844 | 0,090 | | | |
| 1331-1335 | 1,849 | | 368 | | 155 |
| 1351-1355 | 1,879 | | | 17 | |
| 1376-1380 | 1,914 | 0,114 | | | |
| 1381-1385 | 1,921 | | 336 | | 101 |
| 1411-1415 | 1,960 | | | 19 | |
| 1431-1435 | 1,992 | 0,300 | | | |
| 1436-1440 | 2,000 | | 432 | | 109 |

(continúa)

(Tabla V.7, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 1451-1455 | 2,020 | | | 17 | |
| 1466-1470 | 2,040 | 0,296 | | | |
| 1486-1490 | 2,063 | | 554 | | 183 |
| 1491-1495 | 2,074 | | | 14 | |
| 1496-1500 | 2,081 | 0,293 | | | |
| 1501-1505 | 2,088 | | 614 | | 187 |
| 1516-1520 | 2,108 | | | 12 | |
| 1536-1540 | 2,135 | 0,290 | | | |
| 1551-1555 | 2,157 | | 660 | | 260 |
| 1586-1590 | 2,206 | | | 11 | |
| 1601-1605 | 2,226 | 0,300 | | | |
| 1611-1615 | 2,240 | | 660 | | 286 |
| 1641-1645 | 2,276 | | | 11 | |
| 1671-1675 | 2,324 | 0,380 | | | |
| 1676-1680 | 2,330 | | 759 | | 286 |
| 1691-1695 | 2,350 | | | 11 | |
| 1711-1715 | 2,380 | 0,404 | | | |
| 1726-1730 | 2,400 | | 873 | | 285 |
| 1751-1755 | 2,438 | | | 10 | |
| 1776-1780 | 2,468 | 0,455 | | | |
| 1781-1785 | 2,474 | | 832 | | 285 |
| 1816-1820 | 2,528 | | | 12 | |
| 1821-1825 | 2,532 | 0,445 | | | |
| 1826-1830 | 2,540 | | 818 | | 270 |
| 1876-1880 | 2,608 | | | 28 | |
| 1881-1885 | 2,617 | 0,433 | | | |
| 1886-1890 | 2,622 | | 788 | | 262 |
| 1891-1895 | 2,630 | | | 23 | |
| 1911-1915 | 2,657 | 0,300 | | | |
| 1921-1925 | 2,670 | | 774 | | 248 |
| 1936-1940 | 2,692 | | | 7 | |
| 1946-1950 | 2,707 | 0,250 | | | |
| 1951-1955 | 2,713 | | 735 | | 259 |

(continúa)

(Tabla V.7, continuación)

| <u>v_e</u> | <u>\bar{R}</u> | <u>M.seca</u> <u>(mg/l)</u> | <u>D.Q.O.</u> <u>(ppm)</u> | <u>MeO-</u> <u>(μg/l)</u> | <u>ΔResis.</u> <u>(ohm.cm)</u> |
|----------------------|-----------------------------|--------------------------------|-------------------------------|---|---|
| 1966-1970 | 2,733 | | | 7 | |
| 1971-1975 | 2,740 | 0,212 | | | |
| 1976-1980 | 2,746 | | 715 | | 270 |
| 1986-1990 | 2,761 | | | 7 | |
| 1996-2000 | 2,775 | 0,210 | | | |
| 2001-2005 | 2,782 | | 575 | | 232 |
| 2061-2065 | 2,865 | | | 6 | |
| 2121-2125 | 2,950 | 0,199 | | | |
| 2126-2130 | 2,954 | | 456 | | 200 |
| 2131-2135 | 2,963 | | | 3 | |
| 2201-2205 | 3,063 | 0,170 | | | |
| 2206-2210 | 3,067 | | 449 | | 60 |
| 2211-2215 | 3,074 | | | 4 | |
| 2406-2410 | 3,344 | 0,120 | | | |
| 2411-2415 | 3,351 | | 334 | | 20 |
| 2416-2420 | 3,358 | | | 3 | |
| 2466-2470 | 3,428 | 0,168 | | | |
| 2471-2475 | 3,434 | | 265 | | 9 |
| 2491-2495 | 3,463 | | | 6 | |
| 2506-2510 | 3,483 | 0,070 | | | |
| 2526-2530 | 3,510 | | 191 | | 0 |
| 2531-2535 | 3,515 | | | 8 | |
| 2536-2540 | 3,523 | 0,049 | | | |
| 2601-2605 | 3,612 | | 200 | | 51 |
| 2616-2620 | 3,636 | | | 9 | |
| 2631-2635 | 3,657 | 0,040 | | | |
| 2646-2650 | 3,675 | | 200 | | 73 |
| 2656-2660 | 3,690 | | | 10 | |
| 2661-2665 | 3,700 | 0,056 | | | |
| 2681-2685 | 3,725 | | 160 | | |
| 2706-2710 | 3,761 | | | 8 | |
| 2726-2730 | 3,790 | 0,018 | | | |
| 2731-2735 | 3,795 | | 115 | | 70 |

(continúa)

(Tabla V.7, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 2741-2745 | 3,810 | | | 6 | |
| 2746-2750 | 3,817 | 0,010 | | | |
| 2756-2760 | 3,830 | | 25 | | 18 |
| 2771-2775 | 3,851 | | | 2 | |
| 2786-2790 | 3,872 | 0,000 | | | |
| 2806-2810 | 3,930 | | 0 | | 4 |
| 2810-2815 | 3,937 | | | 0 | |
| 2816-2820 | 3,914 | 0,000 | | | |
| 2861-2865 | 3,976 | | 0 | | 0 |
| 2866-2870 | 3,983 | | | 0 | |
| 2871-2875 | 3,990 | 0,000 | | | |

Tabla V.8

Resultados obtenidos en el eluido de la fracción

LP-2

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 536 - 540 | 0,803 | 0,000 | | | |
| 541 - 545 | 0,810 | | 0 | | 0 |
| 546 - 550 | 0,818 | | | 0 | |
| 551 - 556 | 0,825 | 0,030 | | | |
| 561 - 565 | 0,840 | | 320 | | 162 |
| 566 - 570 | 0,848 | | | 38 | |
| 576 - 580 | 0,863 | 0,034 | | | |
| 581 - 585 | 0,870 | | 500 | | 170 |

(continúa)

(Tabla V.8, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 591- 595 | 0,885 | | | 150 | |
| 595- 600 | 0,893 | 0,590 | | | |
| 601- 605 | 0,900 | | 675 | | 178 |
| 606- 610 | 0,907 | | | 100 | |
| 611- 615 | 0,915 | 0,525 | | | |
| 616- 620 | 0,922 | | 536 | | 171 |
| 621- 620 | 0,930 | | | 90 | |
| 631- 635 | 0,945 | 0,465 | | | |
| 636- 640 | 0,952 | | 458 | | 170 |
| 641- 645 | 0,960 | | | 83 | |
| 651- 655 | 0,975 | 0,400 | | | |
| 661- 665 | 0,990 | | 402 | | 168 |
| 666- 670 | 0,997 | | | 64 | |
| 671- 675 | 1,004 | 0,350 | | | |
| 681- 685 | 1,019 | | 354 | | 169 |
| 696- 700 | 1,042 | | | 52 | |
| 706- 710 | 1,057 | 0,300 | | | |
| 711- 715 | 1,064 | | 304 | | 167 |
| 716- 720 | 1,072 | | | 43 | |
| 721- 725 | 1,079 | 0,248 | | | |
| 761- 765 | 1,139 | | 288 | | 171 |
| 766- 770 | 1,146 | | | 34 | |
| 771- 775 | 1,154 | 0,215 | | | |
| 786- 790 | 1,176 | | 240 | | 170 |
| 806- 810 | 1,206 | | | 20 | |
| 811- 815 | 1,213 | 0,200 | | | |
| 816- 820 | 1,221 | | 216 | | 170 |
| 821- 825 | 1,228 | | | 16 | |
| 826- 830 | 1,136 | 0,187 | | | |
| 861- 865 | 1,288 | | 328 | | 167 |
| 881- 885 | 1,318 | | | 14 | |
| 886- 890 | 1,325 | 0,160 | | | |
| 911- 915 | 1,363 | | 296 | | 168 |
| 936- 940 | 1,400 | | | 10 | |
| 951- 955 | 1,422 | 0,155 | | | |
| 961- 965 | 1,437 | | 288 | | 167 |

(continúa)

(Tabla V.8, continuación)

| v_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 1006-1010 | 1,519 | | | 6 | |
| 1011-1015 | 1,512 | 0,150 | | | |
| 1016-1020 | 1,519 | | 216 | | 168 |
| 1031-1035 | 1,542 | | | 4 | |
| 1046-1050 | 1,564 | 0,140 | | | |
| 1061-1065 | 1,587 | | 304 | | 120 |
| 1066-1070 | 1,594 | | | 2 | |
| 1071-1075 | 1,601 | 0,131 | | | |
| 1111-1115 | 1,661 | | 480 | | 100 |
| 1151-1155 | 1,721 | | | 4 | |
| 1156-1160 | 1,728 | 0,120 | | | |
| 1161-1165 | 1,736 | | 408 | | 90 |
| 1181-1185 | 1,766 | | | 5 | |
| 1201-1205 | 1,796 | 0,130 | | | |
| 1211-1215 | 1,810 | | 413 | | 77 |
| 1216-1220 | 1,818 | | | 6 | |
| 1236-1240 | 1,848 | 0,173 | | | |
| 1261-1265 | 1,885 | | 368 | | 79 |
| 1286-1290 | 1,922 | | | 9 | |
| 1291-1295 | 1,930 | 0,160 | | | |
| 1311-1315 | 1,960 | | 328 | | 79 |
| 1326-1330 | 1,982 | | | 10 | |
| 1346-1350 | 2,012 | 0,185 | | | |
| 1361-1365 | 2,034 | | 438 | | 77 |
| 1366-1370 | 2,042 | | | 7 | |
| 1376-1380 | 2,057 | 0,103 | | | |
| 1411-1415 | 2,109 | | 304 | | 78 |
| 1426-1430 | 2,131 | | | 8 | |
| 1441-1445 | 2,154 | 0,106 | | | |
| 1456-1460 | 2,176 | | 320 | | 106 |
| 1461-1465 | 2,184 | | | 11 | |
| 1466-1470 | 2,191 | 0,105 | | | |
| 1511-1515 | 2,258 | | 392 | | 107 |
| 1521-1525 | 2,272 | | | 16 | |
| 1541-1545 | 2,303 | 0,100 | | | |

(continúa)

(Tabla V.8, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 1561-1565 | 2,333 | | 280 | | 107 |
| 1581-1585 | 2,363 | | | 23 | |
| 1596-1600 | 2,385 | 0,095 | | | |
| 1611-1615 | 2,407 | | 276 | | 147 |
| 1616-1620 | 2,415 | | | 30 | |
| 1641-1645 | 2,452 | 0,094 | | | |
| 1661-1665 | 2,482 | | 304 | | 153 |
| 1681-1685 | 2,512 | | | 22 | |
| 1706-1710 | 2,549 | 0,099 | | | |
| 1711-1715 | 2,557 | | 300 | | 149 |
| 1726-1730 | 2,579 | | | 14 | |
| 1761-1765 | 2,631 | 0,102 | | | |
| 1766-1770 | 2,639 | | 296 | | 153 |
| 1786-1790 | 2,669 | | | 9 | |
| 1811-1815 | 2,706 | 0,098 | | | |
| 1816-1820 | 2,713 | | 288 | | 157 |
| 1821-1825 | 2,721 | | | 9 | |
| 1826-1830 | 2,728 | 0,092 | | | |
| 1861-1865 | 2,781 | | 248 | | 157 |
| 1866-1870 | 2,788 | | | 8 | |
| 1881-1885 | 2,810 | 0,090 | | | |
| 1911-1915 | 2,855 | | 320 | | 149 |
| 1916-1920 | 2,863 | | | 6 | |
| 1926-1930 | 2,878 | 0,089 | | | |
| 1961-1965 | 2,930 | | 304 | | 151 |
| 1981-1985 | 2,960 | | | 4 | |
| 1991-1995 | 2,975 | 0,085 | | | |
| 2011-2015 | 3,004 | | 304 | | 155 |
| 2016-2020 | 3,012 | | | 2 | |
| 2031-2035 | 3,034 | 0,080 | | | |
| 2061-2065 | 3,079 | | 272 | | 154 |
| 2076-2080 | 3,101 | | | 3 | |
| 2091-2095 | 3,124 | 0,070 | | | |
| 2111-2115 | 3,154 | | 288 | | 162 |

(continúa)

(Tabla V.8, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 2126-2130 | 3,176 | | | 3 | |
| 2141-2145 | 3,199 | 0,062 | | | |
| 2161-2165 | 3,228 | | 304 | | 135 |
| 2181-2185 | 3,258 | | | 3 | |
| 2196-2200 | 3,281 | 0,050 | | | |
| 2211-2215 | 3,303 | | 264 | | 121 |
| 2216-2220 | 3,310 | | | 3 | |
| 2256-2260 | 3,370 | 0,039 | | | |
| 2261-2265 | 3,378 | | 203 | | 106 |
| 2281-2285 | 3,407 | | | 2 | |
| 2296-2300 | 3,430 | 0,029 | | | |
| 2311-2315 | 3,452 | | 168 | | 82 |
| 2336-2340 | 3,490 | | | 2 | |
| 2361-2365 | 3,527 | 0,020 | | | |
| 2366-2370 | 3,534 | | 126 | | 69 |
| 2371-2375 | 3,542 | | | 2 | |
| 2466-2470 | 3,684 | 0,006 | | | |
| 2471-2475 | 3,691 | | 91 | | 39 |
| 2521-2525 | 3,766 | | | 1 | |
| 2576-2580 | 3,848 | 0,009 | | | |
| 2581-2585 | 3,855 | | 27 | | 10 |
| 2586-2590 | 3,863 | | | 1 | |
| 2666-2670 | 3,982 | 0,012 | | | |
| 2671-2675 | 3,990 | | 16 | | 0 |
| 2681-1685 | 4,004 | | | 0 | |
| 2691-2695 | 4,019 | 0,000 | | | |
| 2701-2705 | 4,034 | | 0 | | 0 |

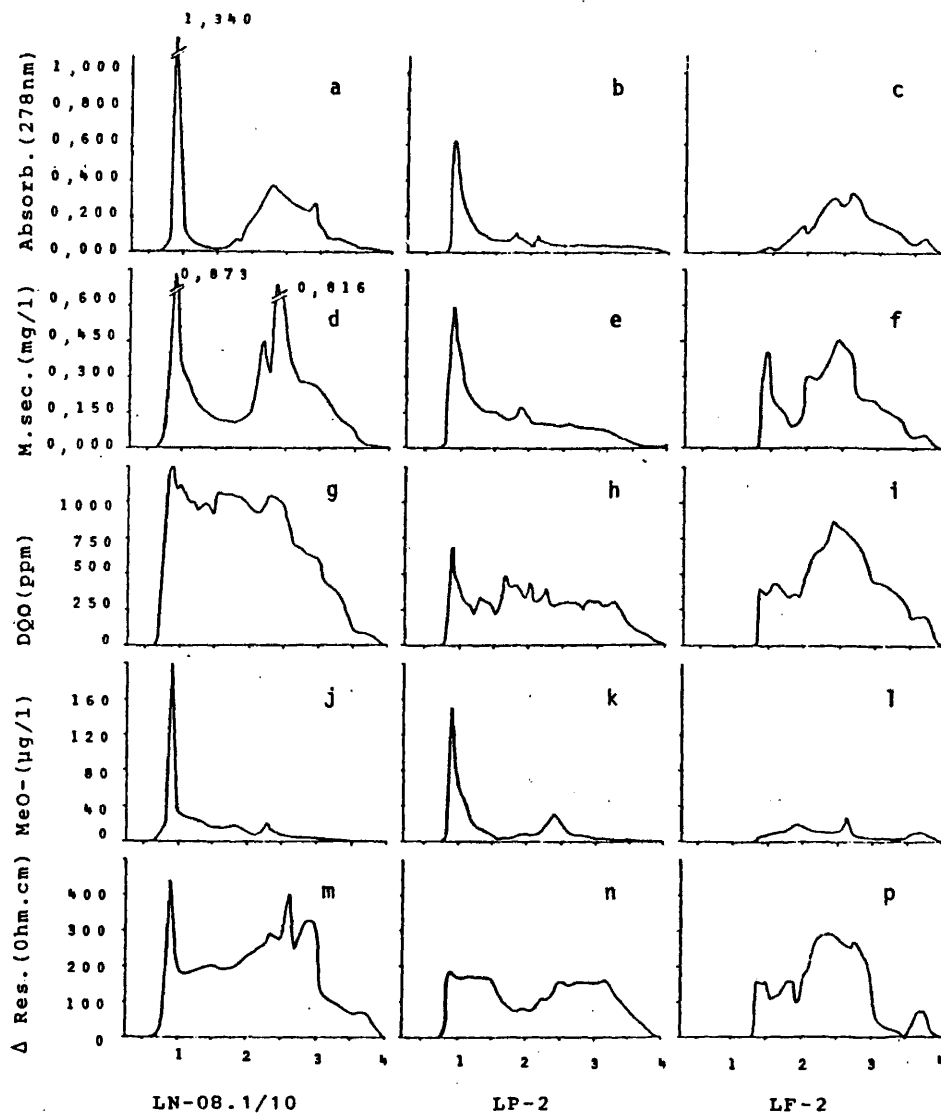


Figura 5.23. Análisis cromatográfico de las aguas de partida (LN-05.1/10), y después del tratamiento de coagulación-floculación con ácido sulfúrico (LP-2 y LF-2).

Con los cromatogramas de la Figura 5.23 y considerando los espectrogramas y cromatogramas correspondientes a las fracciones LN-01.1/10, LF-1 y LP-1 (Figuras 5.1, 5.12 y 5.19-5.22) pueden obtenerse las siguientes conclusiones:

1°) La fracción lignínica de la lejía, LP-1, presenta la casi totalidad de las absorbancias de luz UV en el intervalo de 280-300 nm lo que confirma un esqueleto molecular aromático con cadenas alquílicas (Figura 5.20). La disminución de las absorbancias por debajo de los 280 nm respecto de la lejía negra (Figura 5.1) puede atribuirse a una ruptura de polímeros de alto G.P. -hidrólisis en medio ácido- durante la precipitación del coloide lignínico, que se traduce en una disminución del efecto hipsocrómico de los sustituyentes alquílicos y aril-alquílicos de los núcleos bencénicos de las macromoléculas de lignina.

En el cromatograma de la fracción LP-1 (Figura 5.22) aparece un pico inicial, de absorbancias a 280 nm, menor que en la lejía inicial LN-01 (Figura 5.12). Idéntica observación se puede hacer comparando los cromatogramas obtenidos para LN-05.1/10 y LP-2 (Figura 5.23, 1ª y 2ª columnas) donde tanto la absorbancia a 280 nm (cromatogramas a y b) como el índice de metoxilos (cromatogramas j y k), propiedades que permiten seguir la evolución de los componentes lignínicos, refuerzan las consideraciones anteriores.

2°) Para la fracción LF-2, la determinación de absorbancias a 280 nm e índice de metoxilos (Figura 5.23, c y l) indica la presencia, en la misma, de componentes de naturaleza lignínica de bajo peso molecular, tal como se apuntó al discutir y comparar los cromatogramas de LN-01.1/10 (Figura 5.12) y LF-1 (Figura 5.21). La misma conclusión se deduce del espectrograma de esta últi

ma fracción (Figura 5.19), como ya ha sido indicado en el apartado V.2.

Puede, por tanto, asegurarse que el tratamiento con ácido sulfúrico no precipita la totalidad de los componentes lignínicos, quedando en disolución las hemiligninas y lignanos de bajo peso molecular producidos en la cocción y los que pudieran haberse formado por hidrólisis de las macromoléculas durante la adición de ácido.

3°) Las determinaciones del contenido total de sólidos, DQO y aumento de resistividad, realizadas en las diversas fracciones obtenidas en la elución de LN-05.1/10 (Figura 5.23, d, g y m) y que han quedado recogidas en la Tabla V.6 revelan que, además de los componentes de naturaleza lignínica, están presentes otros de naturaleza holocelulósica responsables de los altos valores de DQO en todo el intervalo de elución, así como de los valores de Δ Resistividad. Estos componentes aparecen en un rango de pesos moleculares mas bajos que los de naturaleza lignínica según puede comprobarse, entre los valores de $R = 1,2 - 2,2$ (Figura 5.23, d, g y m), donde se observa que para la baja concentración de sólidos en este intervalo (d) aparecen valores elevados de la DQO (g) y la resistividad no queda tan disminuida como podría esperarse (m) lo que indica que estos componentes son del tipo carbohidratos (alta DQO) con moléculas de estructura lineal y poco polarizadas (baja conductividad).

Estas mismas consideraciones en el caso de las fracciones LP-2 y LF-2 (Figura 5.23, e, f, h, i, n y p) conducen a la conclusión de que durante la formación de los flóculos lignínicos, al rebasarse el punto isoeléctrico, se produce una retención, por los mismos, de polisacáridos de alto peso molecular

(hemicelulosas) que quedan atrapados en el precipitado.

4°) En la fracción filtrada tras la separación de los flóculos lignínicos se observa un máximo de absorción relativa próximo al valor de 280 nm (ligeramente inferior) que viene a corresponder con los valores hallados por las reglas de Woodward-Fieser (104) para los distintos fenilpropanos que resultan de la despolimerización de la lignina. Dado que a 280 nm se producen las transiciones (de poca intensidad) $n \rightarrow \pi^*$ en los grupos carbonilo $C=O$ (90, 104), puede argumentarse que la fracción LF es particularmente rica en compuestos carbonílicos, particularmente aldosas y cetosas, y otros aromáticos mono y difenílicos con función aldehído (vainillina, siringaldehído, p-hidroxibenzaldehído, etc) y cetona (acetovainillona, ácido acetovainilloilfórmico, acetosiringona, etc.).

V.3. COMPOSICIÓN DE LAS AGUAS TRAS LA ETAPA DE ADSORCIÓN.

Como ya se ha indicado, en el segundo paso del procedimiento de depuración analizado, las aguas resultantes tras la etapa de coagulación-floculación se someten a un tratamiento de adsorción con carbón activo.

Las correspondientes muestras a estudiarse prepararon a partir de las fracciones LF-1 y LF-2 indicadas en el apartado an-

terior, por tratamiento con carbón activo (2 g/l) y posterior filtración, resultando unas fracciones mucho menos coloreadas, identificadas respectivamente como LC-1 y LC-2, y cuyo pH se ajustó a 7,2 antes de los correspondientes análisis.

La Tabla V.9 recoge las características de estas fracciones.

Tabla V.9

| Características de las fracciones ensayadas tras la segunda etapa del tratamiento. | | | |
|---|----------------------|--------------------|--------------|
| ===== | | | |
| Fracción | sól.totales (g/l) | sól.fijos (g/l) | DBO (ppm) |
| LC - 1 | 16,72 | 14,36 | 1.000 |
| LC - 2 | 16,75 | 14,36 | 985 |

En primer lugar se determinó el espectro de absorción UV de la fracción LC-1 previa dilución al 0,2% con respecto a la lejía negra original correspondiente, utilizando agua destilada como blanco de referencia. (Figura 5.24)

En el espectrograma de la fracción LC-1 se observa una considerable disminución de las absorbancias en el intervalo de longitudes de onda entre 240 nm y 300 nm, desapareciendo el máximo que presentaba la LF-1 entre los 270-280 nm (Figura 5.19), lo que indica la desaparición, en proporción muy considerable, de los componentes lignínicos que presentaba aquella fracción.

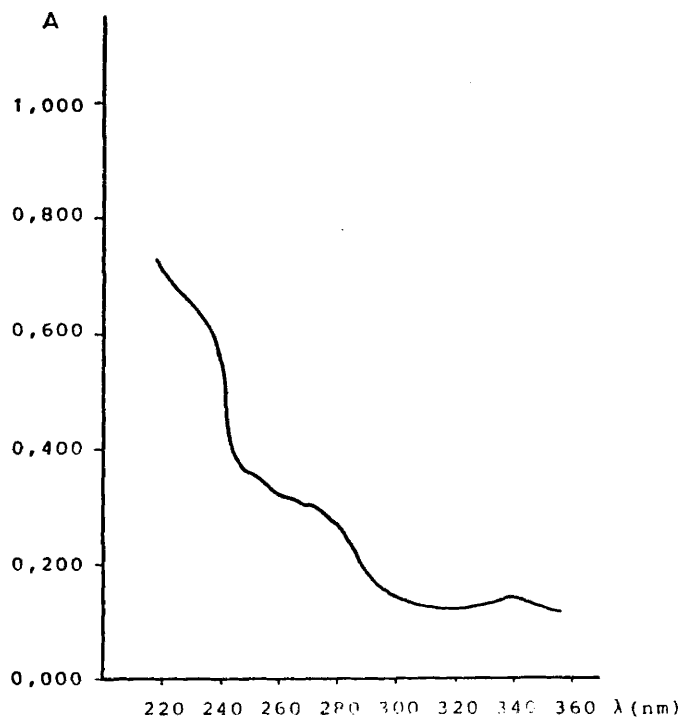


Figura 5.24. Espectrograma UV de LC-1.
Concentración: 0,2% de LN original
pH = 7,2

Posteriormente se cromatografió dicha fracción, mediante Sephadex, determinándose en el eluido la absorbancia a 280 nm. La figura 5.25 muestra los resultados obtenidos.

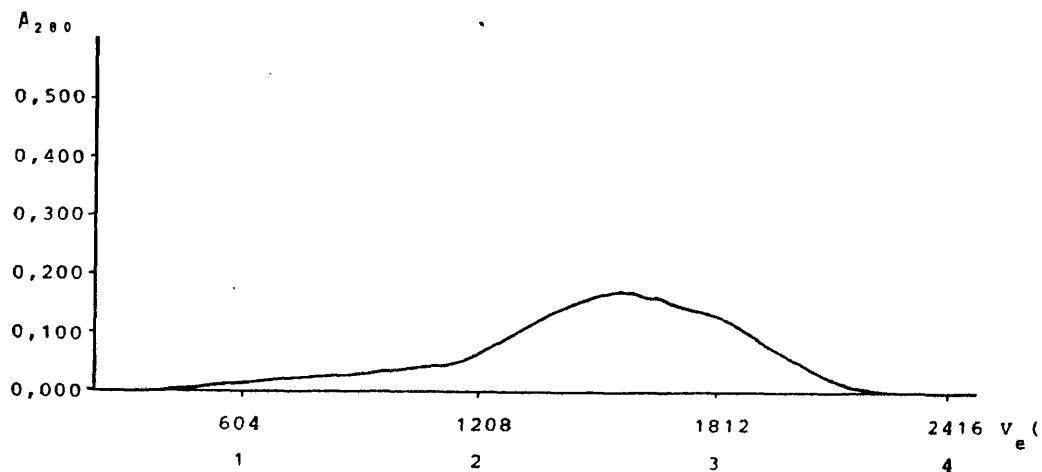


Figura 5.25. Cromatograma de LC-1.

Muestra: volumen inyectado: 1 ml.

concentración: 10% con respecto a la LN original correspondiente.

Eluyente: 2 g/l NaCl + 0,2 g/l NaN_3 en agua destilada
caudal: 2 ml/minuto

Columna: relleno: Sephadex G-75 M.
altura: 1 m

$V_o = 604$ ml

Detector: UV a 280 nm

Para la fracción LC-1 se observa una disminución de la absorbancia en todo el intervalo de elución, respecto a la fracción LF-1 (Figura 5.23), desapareciendo prácticamente todos los componentes lignínicos que elúan para valores de R inferiores a 1,8 (peso molecular superior a 10.000 u.m.a.) y disminuyendo apreciablemente la concentración de aquellos que presentan menor peso molecular.

La fracción LC-2 se cromatografió en las mismas condiciones anteriores, determinándose en el eluido, además de la absorbancia a 280 nm, el contenido en materia seca, DQO, índice de metoxilos y diferencia de resistividad respecto al eluyente, valores que recoge la Tabla V.10.

La figura 5.26 muestra los cromatogramas obtenidos para cada una de las propiedades determinadas.

Tabla V.10

| Resultados obtenidos en el eluido de la fracción LC - 2 | | | | | |
|---|-----------|------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- ($\mu\text{g/l}$) | $\Delta\text{Resis.}$ (ohm.cm) |
| 881- 885 | 1,318 | 0 | | | |
| 886- 890 | 1,325 | | 0 | | 0 |
| 891- 895 | 1,333 | | | 0 | |
| 906- 910 | 1,355 | 0,100 | | | |
| 911- 915 | 1,361 | | 100 | | 20 |
| 921- 925 | 1,378 | | | 1 | |
| 926- 930 | 1,385 | 0,165 | | | |
| 936- 940 | 1,400 | | 150 | | 58 |
| 941- 945 | 1,407 | | | 1 | |

(continúa)

(Tabla y.10, continuaci6n)

| <u>y_e</u> | <u>R̄</u> | <u>M.seca</u> <u>(mg/l)</u> | <u>D.Q.O.</u> <u>(ppm)</u> | <u>MeO-</u> <u>(pg/l)</u> | <u>ΔResis.</u> <u>(ohm.cm)</u> |
|----------------------|-----------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 961- 965 | 1,437 | 0,200 | | | |
| 966- 970 | 1,445 | | 140 | | 62 |
| 1011-1015 | 1,512 | | | 3 | |
| 1061-1065 | 1,587 | 0,103 | | | |
| 1066-1070 | 1,594 | | 151 | | 59 |
| 1081-1085 | 1,616 | | | 4 | |
| 1096-1100 | 1,639 | 0,080 | | | |
| 1111-1115 | 1,661 | | 133 | | 60 |
| 1136-1140 | 1,699 | | | 5 | |
| 1156-1160 | 1,728 | 0,072 | | | |
| 1161-1165 | 1,736 | | 124 | | 60 |
| 1166-1170 | 1,743 | | | 5 | |
| 1201-1205 | 1,796 | 0,040 | | | |
| 1206-1210 | 1,803 | | 116 | | 61 |
| 1221-1225 | 1,825 | | | 10 | |
| 1236-1240 | 1,848 | 0,051 | | | |
| 1241-1245 | 1,855 | | 126 | | 62 |
| 1246-1250 | 1,863 | | | 9 | |
| 1256-1260 | 1,878 | 0,043 | | | |
| 1261-1265 | 1,885 | | 135 | | 62 |
| 1286-1290 | 1,922 | | | 8 | |
| 1291-1295 | 1,930 | 0,040 | | | |
| 1316-1320 | 1,967 | | 150 | | 52 |
| 1336-1340 | 1,997 | | | 8 | |
| 1361-1365 | 2,034 | 0,102 | | | |
| 1376-1380 | 2,057 | | 216 | | 45 |
| 1381-1385 | 2,064 | | | 6 | |
| 1411-1415 | 2,109 | 0,098 | | | |
| 1461-1465 | 2,185 | | 250 | | 53 |
| 1506-1510 | 2,251 | | | 5 | |
| 1511-1515 | 2,258 | 0,095 | | | |
| 1526-1530 | 2,281 | | 279 | | 60 |
| 1546-1550 | 2,310 | | | 5 | |
| 1561-1565 | 2,333 | 0,092 | | | |

(continúa)

(Tabla V.10, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 1596-1600 | 2,385 | | 291 | | 67 |
| 1601-1605 | 2,393 | | | 5 | |
| 1611-1615 | 2,407 | 0,130 | | | |
| 1626-1630 | 2,430 | | 304 | | 67 |
| 1641-1645 | 2,452 | | | 6 | |
| 1661-1665 | 2,482 | 0,161 | | | |
| 1666-1670 | 2,490 | | 300 | | 68 |
| 1676-1680 | 2,504 | | | 8 | |
| 1691-1695 | 2,527 | 0,166 | | | |
| 1701-1705 | 2,542 | | 276 | | 68 |
| 1706-1710 | 2,549 | | | 9 | |
| 1761-1765 | 2,631 | 0,142 | | | |
| 1806-1810 | 2,699 | | 262 | | 67 |
| 1811-1815 | 2,706 | | | 13 | |
| 1816-1820 | 2,713 | 0,100 | | | |
| 1846-1850 | 2,758 | | 250 | | 69 |
| 1871-1875 | 2,796 | | | 3 | |
| 1876-1880 | 2,803 | 0,088 | | | |
| 1911-1915 | 2,855 | | 200 | | 70 |
| 1916-1920 | 2,863 | | | 1 | |
| 1926-1930 | 2,878 | 0,084 | | | |
| 1956-1960 | 2,922 | | 163 | | 69 |
| 1961-1965 | 2,930 | | | 1 | |
| 2006-2010 | 2,997 | 0,080 | | | |
| 2031-2035 | 3,034 | | 155 | | 70 |
| 2056-2060 | 3,072 | | | 2 | |
| 2061-2065 | 3,079 | 0,075 | | | |
| 2066-2070 | 3,087 | | 151 | | 69 |
| 2081-2085 | 3,109 | | | 1 | |
| 2096-2100 | 3,131 | 0,074 | | | |
| 2111-2115 | 3,154 | | 147 | | 64 |
| 2126-2130 | 3,176 | | | 3 | |
| 2141-2145 | 3,199 | 0,085 | | | |
| 2161-2165 | 3,228 | | 123 | | 54 |

(continúa)

(Tabla V.10, continuaci3n)

| <u>V_e</u> | <u>R̄</u> | <u>M.seca</u> <u>(mg/l)</u> | <u>D.Q.O.</u> <u>(ppm)</u> | <u>MeO-</u> <u>(μg/l)</u> | <u>ΔResis.</u> <u>(ohm.cm)</u> |
|----------------------|-----------|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|-----------------------------------|
| 2206-2210 | 3,296 | | | 3 | |
| 2211-2215 | 3,303 | 0,076 | | | |
| 2241-2245 | 3,348 | | 113 | | 56 |
| 2261-2265 | 3,378 | | | 5 | |
| 2276-2280 | 3,400 | 0,068 | | | |
| 2291-2295 | 3,422 | | 100 | | 62 |
| 2306-2310 | 3,445 | | | 4 | |
| 2311-2315 | 3,452 | 0,061 | | | |
| 2316-2320 | 3,460 | | 78 | | 67 |
| 2341-2345 | 3,497 | | | 5 | |
| 2361-2365 | 3,527 | 0,040 | | | |
| 2366-2370 | 3,534 | | 69 | | 64 |
| 2411-2415 | 3,601 | | | 7 | |
| 2441-2445 | 3,646 | 0,046 | | | |
| 2471-2475 | 3,691 | | 74 | | 73 |
| 2496-2500 | 3,728 | | | 6 | |
| 2501-2505 | 3,736 | 0,049 | | | |
| 2516-2520 | 3,758 | | 42 | | 64 |
| 2526-2530 | 3,773 | | | 5 | |
| 2541-2545 | 3,796 | 0,020 | | | |
| 2546-2550 | 3,803 | | 42 | | 40 |
| 2561-2565 | 3,825 | | | 4 | |
| 2581-2585 | 3,855 | 0,011 | | | |
| 2596-2600 | 3,878 | | 24 | | 15 |
| 2606-2610 | 3,893 | | | 2 | |
| 2621-2625 | 3,915 | 0,005 | | | |
| 2626-2630 | 3,922 | | 12 | | 10 |
| 2671-2675 | 3,990 | | | 1 | |
| 2676-2680 | 3,997 | 0,000 | | | |
| 2681-2685 | 4,004 | | 0 | | 0 |
| 2741-2745 | 4,094 | | | 0 | |

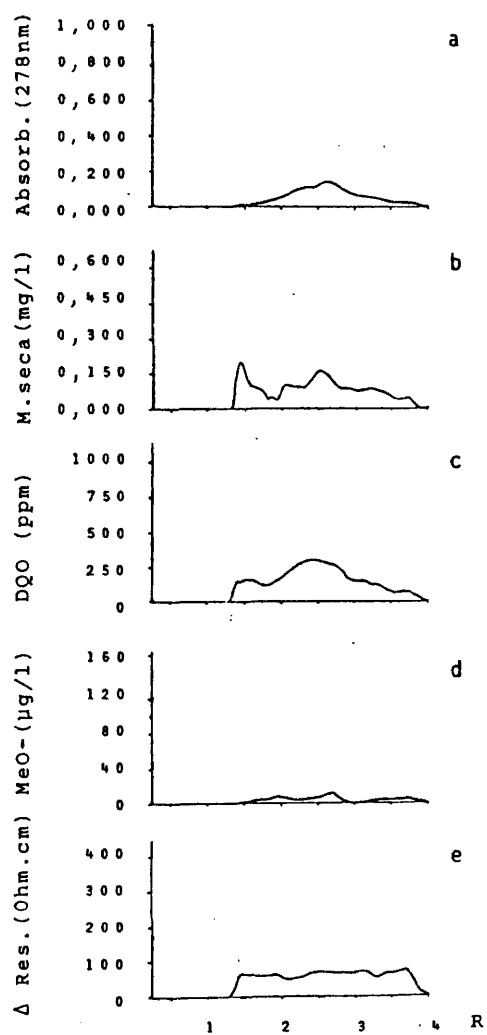


Figura 5.26. Análisis cromatográfico de la fracción LC-2

Comparando los resultados obtenidos para las fracciones resultantes del tratamiento de adsorción con carbón activo, con los correspondientes a las que resultan del tratamiento con ácido sulfúrico y las aguas de partida, puede indicarse:

1°) Después de la primera etapa del tratamiento, en las aguas resultantes aún quedan sustancias con peso molecular elevado que presentan alta DQO y un carácter de baja polaridad, sin contenido apreciable de metoxilos (Figura 5.23, i, l y p) -polisacáridos- que prácticamente se eliminan en el tratamiento posterior con carbón activo (Figura 5.26, c, d y e).

2°) En cuanto a los componentes lignínicos se refiere, comparando los cromatogramas obtenidos para las fracciones LC-1 (Figura 5.25) y LC-2 (Figura 5.26, a, b y d) con los de las correspondientes fracciones LF-1 (Figura 5.21) y LF-2 (Figura 5.23, c, f y l) se puede observar una disminución considerable de los componentes que presentan absorbancia a 280 nm y que contienen radicales metoxílicos en su estructura. A estos componentes es atribuible el máximo de absorbancia alrededor de los 280 nm que presenta el espectrograma UV de la fracción LF-1 (Figura 5.19) y que no se observa en el espectrograma de LC-1 (Figura 5.24).

3°) En el espectrograma UV de LC-1 (Figura 5.24) se observan grandes absorciones de luz por debajo de los 240 nm, siendo bastante menores por encima de esa longitud de onda, lo cual permite pensar que los componentes fundamentales de esta fracción son polisacáridos de bajo G.P., principalmente mono y disacáridos. Esta hipótesis viene reforzada por el alto porcentaje de DBO, respecto a la lejía negra, observada en esta fracción (Tablas V.5 y V.9).

En el análisis cromatográfico de la fracción LC-2 (Figura 5.26, b, c y e) se aprecia una reducción del contenido total de sólidos entre el 50% y el 60% con respecto al de LF-2 (Figura 5.23, f), con una DQO global y resistividad prácticamente mitad que la observada antes del tratamiento con carbón activo (Figura 5.23, i y p). Así mismo se aprecia una reducción del color después del tratamiento con carbón activo próxima al 80% del valor inicial (Tabla II.3).

Las consideraciones expuestas parecen indicar que los principales componentes de las aguas resultantes, después del tratamiento con carbón activo, son de naturaleza hemicelulósica con pesos moleculares inferiores a 20.000 u.m.a..

V.4. EVOLUCION DE LOS COMPUESTOS PRESENTES EN LAS AGUAS RESIDUALES CON EL TRATAMIENTO BIOLÓGICO.

El paso final del procedimiento de depuración objeto de estudio consiste en el tratamiento biológico de las aguas resultantes de las etapas anteriores.

Para el estudio del proceso de degradación biológica se ha partido de lejías negras, previamente diluídas y tamponadas a pH = 7,2. De este modo se puede seguir la evolución, con el tratamiento biológico, de todos los compuestos fundamentales inicial-

mente presentes en las aguas estudiadas, en lugar de restringir el estudio a aquellos que permanecen en las mismas tras la etapa de adsorción.

En primer lugar, se realizaron experimentos con la lejía negra LN-01 diluída hasta un grado igual al 2% del inicial. Distintas muestras del agua residual así preparada se sometieron a degradación biológica natural por espacio de 3 y 5 días, transcurridos los cuales se determinaron los espectrogramas UV de las aguas resultantes (LNB-1 y LNB-2), una vez filtradas convenientemente y diluidas al 10%. La figura 5.27 muestra dichos espectrogramas. Como blanco de referencia se utilizaron en este caso las mismas aguas añadidas como portadoras de microorganismos en los correspondientes experimentos, previamente filtradas.

Los microorganismos utilizados en los ensayos de biodegradación corresponden a los corrientemente presentes en los sistemas acuáticos naturales, ya que las aguas añadidas como portadoras de microorganismos en los experimentos en cuestión fueron tomadas en el río Manzanares a su paso por el Puente de Los Franceses, en Madrid.

En la Figura 5.27 se puede observar una disminución de la absorbancia UV, en todo el intervalo analizado, a medida que progresa la acción degradante de los microorganismos sobre los componentes de la LN, manteniéndose el máximo de absorbancia a 278 nm. La gran semejanza que se aprecia entre los espectrogramas de LNB-1 y LNB-2 (Figura 5.27) con la fracción LP-1 (Figura 5.20) permite adelantar que la degradación biológica afecta sobre todo a los componentes no lignínicos. No obstante la gran disminución que se aprecia hacia los 260 nm, de forma similar a lo observado para la fracción LF-1 (Figura 5.19), hace pensar que se pro-

duce cierta alteración del esqueleto molecular de los componentes de naturaleza lignínica, por los microorganismos presentes, durante el proceso de degradación biológica.

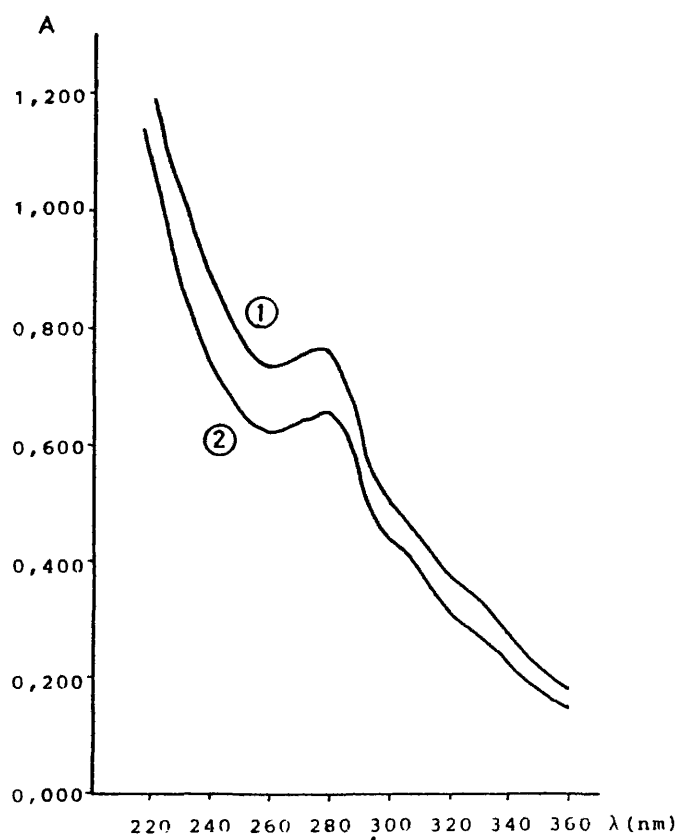


Figura 5.27. Espectrogramas UV correspondientes a la lejía LN-01 después de sometida a degradación biológica durante 3 días (curva 1) y 5 días (curva 2). (Muestras diluidas al 0,2% con respecto a la lejía negra original).

Para facilitar la comparación entre las fracciones correspondientes a distintas etapas del tratamiento analizado, se han representado en la Figura 5.28 las absorbancias relativas con respecto a la lejía negra de partida (LN-01), de cada una de dichas fracciones. La curva 1 corresponde a LP-1 (LP/LN), la curva 2 a LN-01 después de degradación biológica durante 5 días (LNB2/LN), la curva 3 a LF-1 (LF/LN) y la curva 4 a LC-1 (LC/LN).

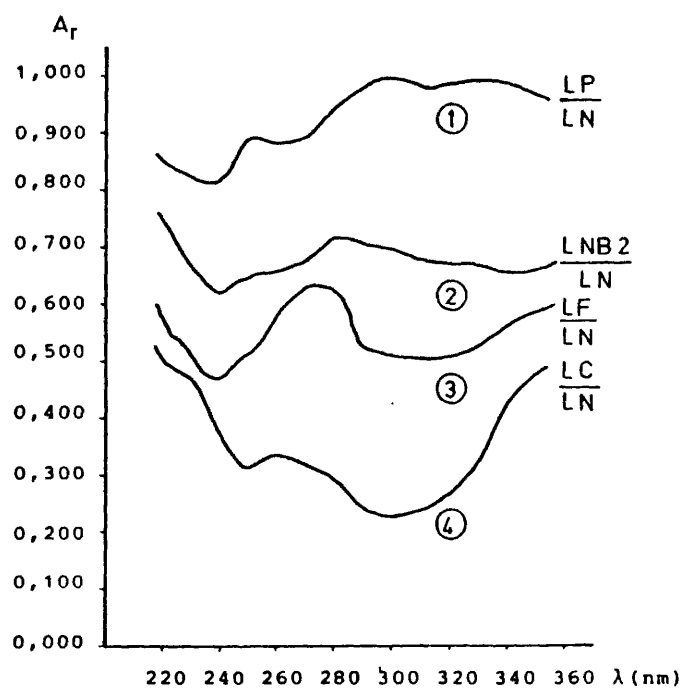


Figura 5.28. Absorbancias relativas de diferentes fracciones, respecto a la lejía negra inicial.

De la representación del cociente entre las absorbancias de las diferentes fracciones y la correspondiente a la lejía de partida, se puede deducir la naturaleza de los componentes, inicialmente presentes en LN-01, que permanecen en el efluente resultante de cada una de las etapas del tratamiento estudiado. La presencia de máximos indicará una mayor proporción de aquellos componentes que presentan una banda de absorción próxima a esos valores. Igualmente los mínimos informan sobre los componentes mas afectados por el tratamiento. El valor de A_r en cada momento puede servir para conocer de una forma aproximada, puesto que la ley de Beer-Lambert no se cumple en este tipo de muestras, la cantidad de los diferentes tipos de compuestos presentes en las fracciones resultantes, después de aplicar el correspondiente tratamiento a las aguas iniciales LN-01.

Las curvas 1, 3 y 4 de la Figura 5.28 que representan los valores relativos de absorbancias para las fracciones LP-1, LF-1 y LC-1, respectivamente, vienen a corroborar la hipótesis, ya indicada en los apartados V.2 y V.3, acerca de la naturaleza de los componentes que se eliminan de las aguas residuales en el tratamiento con ácido sulfúrico inicialmente y con carbón activo después.

En cuanto a la fracción LNB-2 (Figura 5.28, curva 2), se puede deducir que los componentes realmente afectados por la degradación biológica son los de naturaleza holocelulósica apreciándose la disminución mas importante de absorbancia entre 230-270 nm.

Posteriormente, la fracción LN-01.1/10, ya utilizada en anteriores ensayos, se sometió a degradación biológica durante un tiempo suficientemente largo, 15 días, después del cual ya no pa-

rece producirse variación alguna en la DBO ejercida. El agua resultante (LNB-3) se cromatografió en idénticas condiciones que las fracciones correspondientes a etapas anteriores; el correspondiente cromatograma queda recogido en la Figura 5.29.

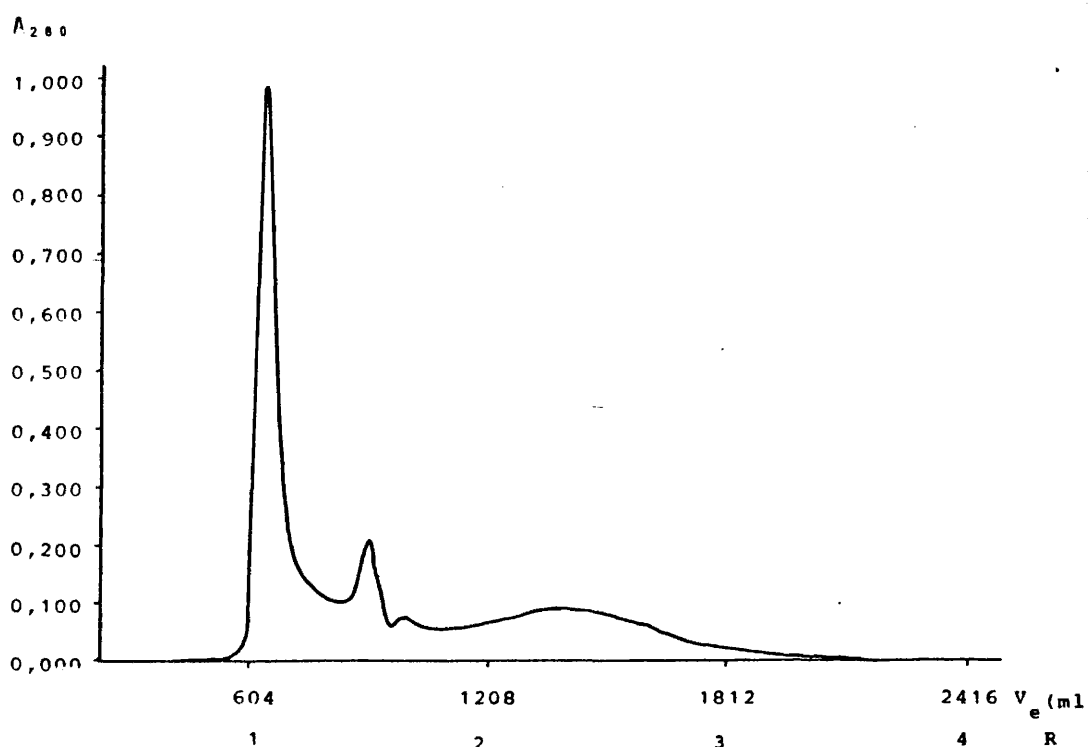


Figura 5.29. Cromatograma de LNB-3.

Muestra: volumen inyectado: 1 ml.

concentración: 10% respecto de la LN original

Eluyente: 2 g/l NaCl + 0,2 g/l NaN_3 en agua destilada

caudal: 2 ml/minuto

Columna: relleno: Sephadex G-75 M.

altura: 1 m

V_0 : 604 ml

Detector: UV a 280 nm

El cromatograma obtenido por determinación de absorban-
cias a 280 nm en el eluido de la fracción LNB-3 (Figura 5.29),
comparado con el de la lejía inicial LN-01 (Figura 5.12), parece
indicar una desaparición de componentes, detectables a 280 nm, a
valores de R superiores a 2. Esta observación permite adelantar
que la acción de los microorganismos se deja sentir de alguna ma-
nera sobre determinados compuestos de naturaleza lignínica.

Con vistas a obtener una mayor información, se preparó
una nueva fracción partiendo de la lejía negra LN-05, la cual se
diluyó hasta un grado igual al 10% del inicial y se sometió a de-
gradación biológica en las mismas condiciones que las muestras an-
teriores, por espacio de 12 días. El agua resultante (LNB-4), con-
venientemente filtrada, se cromatografió en las condiciones usua-
les, determinándose en el eluido las curvas de materia seca, DQO,
índice de metoxilos y resistividad. La Tabla V.11 recoge los re-
sultados obtenidos, cuya representación gráfica, incluida la cur-
va de absorbancia a 280 nm, puede verse en la Figura 5.30.

Tabla V.11

Resultados obtenidos en el eluido de la fracción
LNB-4

| v_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- ($\mu\text{g/l}$) | $\Delta\text{Resis.}$ (ohm.cm) |
|----------|-----------|------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| 546- 550 | 0,731 | 0,000 | | | |
| 551- 555 | 0,736 | | 0 | | 0 |
| 556- 560 | 0,744 | | | 0 | |
| 606- 610 | 0,811 | 0,070 | | | |
| 611- 615 | 0,817 | | 328 | | 34 |
| 631- 635 | 0,844 | | | 9 | |
| 651- 655 | 0,871 | 0,500 | | | |
| 661- 665 | 0,884 | | 376 | | 45 |

(continúa)

(Tabla V.11, continuación)

| v_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 696- 700 | 0,931 | | | 100 | |
| 701- 705 | 0,937 | 0,860 | | | |
| 711- 715 | 0,951 | | 464 | | 123 |
| 731- 735 | 0,977 | | | 19 | |
| 736- 740 | 0,984 | 0,386 | | | |
| 756- 760 | 1,011 | | 320 | | 37 |
| 791- 795 | 1,057 | | | 15 | |
| 796- 800 | 1,064 | 0,298 | | | |
| 811- 815 | 1,084 | | 296 | | 26 |
| 826- 830 | 1,104 | | | 15 | |
| 846- 850 | 1,131 | 0,267 | | | |
| 861- 865 | 1,151 | | 296 | | 24 |
| 876- 880 | 1,171 | | | 14 | |
| 891- 895 | 1,191 | 0,230 | | | |
| 911- 915 | 1,217 | | 304 | | 26 |
| 931- 935 | 1,244 | | | 13 | |
| 936- 940 | 1,251 | 0,210 | | | |
| 956- 960 | 1,277 | | 296 | | 28 |
| 976- 980 | 1,304 | | | 12 | |
| 996-1000 | 1,331 | 0,180 | | | |
| 1011-1015 | 1,351 | | 296 | | 30 |
| 1031-1035 | 1,377 | | | 10 | |
| 1036-1040 | 1,384 | 0,160 | | | |
| 1061-1065 | 1,417 | | 240 | | 26 |
| 1076-1080 | 1,437 | | | 8 | |
| 1096-1100 | 1,464 | 0,100 | | | |
| 1111-1115 | 1,484 | | 256 | | 58 |
| 1131-1135 | 1,511 | | | 7 | |
| 1136-1140 | 1,517 | 0,100 | | | |
| 1211-1215 | 1,617 | | 280 | | 13 |
| 1231-1235 | 1,644 | | | 16 | |
| 1236-1240 | 1,651 | 0,112 | | | |
| 1311-1315 | 1,751 | | 336 | | 22 |

(continúa)

(Tabla V.11, continuación)

| v_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- (μ g/l) | Δ Resis. (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|----------------------|-----------------------------|
| 1331-1335 | 1,777 | | | 30 | |
| 1336-1340 | 1,784 | 0,304 | | | |
| 1411-1415 | 1,885 | | 304 | | 24 |
| 1431-1435 | 1,908 | | | 23 | |
| 1436-1440 | 1,917 | 0,352 | | | |
| 1511-1515 | 2,017 | | 304 | | 24 |
| 1531-1535 | 2,044 | | | 18 | |
| 1536-1540 | 2,051 | 0,600 | | | |
| 1611-1615 | 2,151 | | 344 | | 26 |
| 1631-1635 | 2,177 | | | 6 | |
| 1636-1640 | 2,184 | 0,400 | | | |
| 1711-1715 | 2,284 | | 296 | | 34 |
| 1736-1740 | 2,317 | | | 18 | |
| 1741-1745 | 2,324 | 0,465 | | | |
| 1811-1815 | 2,417 | | 296 | | 60 |
| 1831-1835 | 2,444 | | | 12 | |
| 1836-1840 | 2,451 | 0,312 | | | |
| 1911-1915 | 2,551 | | 264 | | 70 |
| 1931-1935 | 2,577 | | | 5 | |
| 1936-1940 | 2,584 | 0,360 | | | |
| 2011-2015 | 2,684 | | 248 | | 65 |
| 2036-2040 | 2,717 | | | 3 | |
| 2041-2045 | 2,724 | 0,320 | | | |
| 2111-2115 | 2,817 | | 240 | | 73 |
| 2131-2135 | 2,844 | | | 2 | |
| 2136-2140 | 2,851 | 0,225 | | | |
| 2211-2215 | 2,951 | | 240 | | 73 |
| 2231-2235 | 2,975 | | | 1 | |
| 2236-2240 | 2,984 | 0,125 | | | |
| 2261-2265 | 3,017 | | 225 | | 70 |
| 2336-2340 | 3,117 | | | 0 | |
| 2341-2345 | 3,124 | 0,095 | | | |
| 2401-2405 | 3,204 | | 200 | | 68 |

(continúa)

(Tabla V.11, continuación)

| V_e | \bar{R} | M.seca (mg/l) | D.Q.O. (ppm) | MeO- ($\mu\text{g/l}$) | $\Delta\text{Resis.}$ (ohm.cm) |
|-----------|-----------|------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------------------------|
| 2431-2435 | 3,242 | | | 1 | |
| 2436-2440 | 3,251 | 0,108 | | | |
| 2471-2475 | 3,297 | | 115 | | 50 |
| 2526-2530 | 3,371 | | | 2 | |
| 2536-2540 | 3,384 | 0,096 | | | |
| 2576-2580 | 3,437 | | 88 | | 35 |
| 2621-2625 | 3,497 | | | 0 | |
| 2626-2630 | 3,504 | 0,060 | | | |
| 2676-2680 | 3,571 | | 70 | | 19 |
| 2701-2705 | 3,604 | | | 1 | |
| 2726-2730 | 3,637 | 0,048 | | | |
| 2761-2765 | 3,684 | | 50 | | 13 |
| 2796-2800 | 3,731 | | | 0 | |
| 2831-2835 | 3,777 | 0,030 | | | |
| 2881-2885 | 3,844 | | 22 | | 10 |
| 2931-2935 | 3,911 | | | 0 | |
| 2976-2980 | 3,971 | 0,018 | | | |
| 2981-2985 | 3,977 | | 10 | | 8 |
| 2986-2990 | 3,984 | | | 0 | |
| 3021-3025 | 4,031 | 0,008 | | | |
| 3051-3055 | 4,071 | | 0 | | 0 |
| 3086-3090 | 4,117 | | | 0 | |
| 3121-3125 | 4,164 | 0,000 | | | |

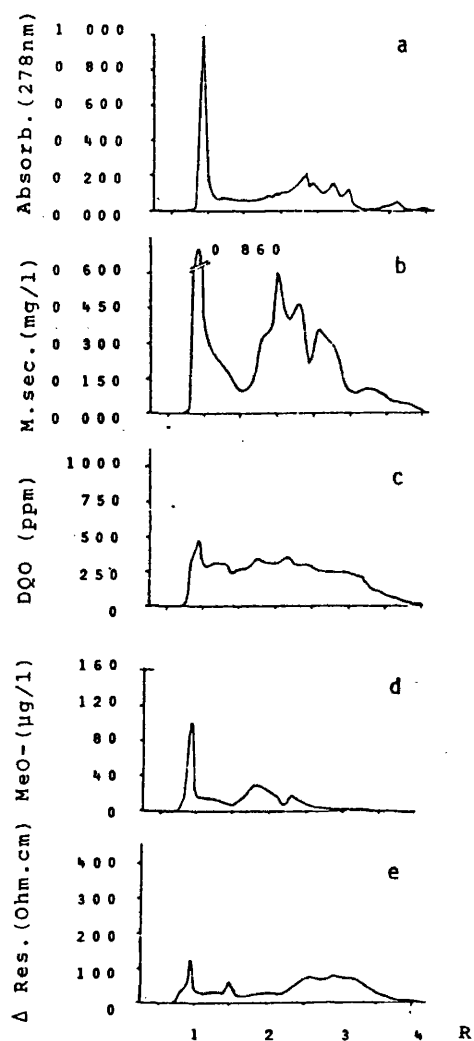


Figura 5.30. Análisis cromatográfico de las aguas estudiadas después de haber sido sometidas a degradación biológica (fracción LNB-4).

Comparando los desarrollos cromatográficos de la fracción LNB-4 (Figura 5.30) con los de la lejía de partida LN-05 (Figura 5.23, 1ª columna) se observa:

1º) El contenido total de sólidos (Figuras 5.23, d y 5.30, b) se ve reducido, y su distribución por tamaños moleculares sensiblemente afectada. Se aprecia la desaparición del pico elevado que aparecía, para LN-05, hacia $R = 2,5$ y que como ya se ha indicado podría deberse a los polisacáridos presentes; sin embargo parece, para LNB-4, un pico relevante hacia $R = 2$ que solo cabe explicarse como debido al fraccionamiento de moléculas mayores que presenta cierto contenido en metoxilos (Figura 5.30, d). También en el cromatograma de la fracción LNB-3 (Figura 5.29) aparece un pico hacia $R = 1,5$, detectable a 280 nm, que no acepta otra explicación que la de proceder de una fragmentación de moléculas de mayor masa.

La observación parece en desacuerdo con la aparición de un primer pico en los cromatogramas de ambas fracciones (Figuras 5.23, d y 5.30, b) con valores bastante próximos. Resulta obvio indicar que los microorganismos desarrollados a expensas del material degradado son una suma adicional del contenido en sólidos. Estos microorganismos, ya sin actividad vital debido a la presencia de NaN_3 en el eluyente, poseen una masa elevada, respecto a los demás componentes, por lo cual eluirán de la columna junto con las primeras fracciones.

2º) La reducción de la DQO y resistividad (Figuras 5.23 g y m, y 5.30 c y e) indican, también, la desaparición de productos de naturaleza holocelulósica, así como los componentes hidrosolubles de la madera.

3°) Por su parte, los componentes de naturaleza lignínica parecen sufrir ciertas alteraciones estructurales. En la fracción LNB-4 (Figura 5.30, a) se observa una disminución bastante considerable de los componentes que presentan absorbancia a 280 nm, a valores de R superiores a 2 (peso molecular inferior a 7.000 u.m.a.), así como una reducción del area del pico inicial que corresponde a las moléculas de mayor masa molecular, en relación con el cromatograma correspondiente a la lejía de partida (Figura 5.23, a).

El contenido en metoxilos aparece disminuido, al menos parcialmente, en prácticamente todo el intervalo de elución; esto es especialmente apreciable si se compara el pico inicial ($R = 1$) correspondiente a la fracción biodegradada LNB-4 (Figura 5.30, d) con el de la lejía inicial LN-05 (Figura 5.23, m).

Cabe pués pensar que durante la degradación biológica se descomponen completamente (o casi completamente) los productos resultantes de la hidrólisis de las hemicelulosas (polisacáridos) y, paralelamente, las ligninas sufren una reducción de su G.P., probablemente por ruptura de enlaces tipo éter, como ya había apuntado Kirk (105).

V.4.1. ESTUDIO DE LAS POSIBILIDADES DE BIODEGRADACION DE LOS COMPONENTES LIGNINICOS.

Como se ha visto en el apartado anterior, los compuestos de naturaleza lignínica presentes en las aguas estudiadas no resultan degradables, al menos en grado importante, por los microorganismos normalmente presentes en los distintos sistemas acuáticos naturales y en los lodos biológicos usados en los procesos de depuración por esta vía. Esta circunstancia ya había sido apuntada por Vian y Rodríguez en un trabajo anterior (105) al comparar la DQO y la DBO de aguas del tipo de las ensayadas, antes y después de separar por coagulación-floculación la mayor parte de la materia lignínica disuelta en las mismas.

No obstante Woodard, Sproul y Atkins (106) obtuvieron interesantes resultados en cuanto a biodegradación de lignina de leñas al bisulfito se refiere, utilizando cultivos especialmente adaptados, en los que identificaron entre otras las especies *Leptothrix ochracea*, *Pseudomonas multistreata* y *Flavobacterium sp.*, así como un cuarto organismo del genero *Micrococcus*.

En el presente trabajo se ha estudiado la posibilidad de biodegradar los compuestos lignínicos, presentes en las aguas objeto de estudio, mediante hongos. Los conocimientos que se tienen sobre organismos destructores de lignina son casi exclusivos de elementos parásitos y saprófitos de la madera (42,106,107) aclimatados en algunos casos a ligninas separadas de la madera o de leñas de cocción de la misma (106,107).

Para la realización de los ensayos se preparó el medio de cultivo siguiente:

Viruta fina de *E. Glogulus*, molida (4,5 g)
Nitrato amónico (0,120 g)
Nitrito amónico (0,080 g)
Agua, hasta conseguir una pasta húmeda homogénea.
Ácido cítrico, hasta conseguir pH = 5,5 inicial.

Este medio se separó en dos cajas de Petri, A y B, a las cuales se realizaron las siguientes siembras:

Caja A: 1 gramo de serrín GB. El serrín GB se preparó de la forma siguiente: Se partió de muestras de lodo y agua recogidas de charcos, persistentes después de haber transcurrido 24-30 horas desde la precipitación de lluvia, en el pequeño bosque situado entre la Ftad. de Cc. Químicas (U. Complutense) y la E.T. S.I. Montes (U. Politécnica) en Madrid. La muestra recogida se introdujo en un frasco tapado cerrado, agitándose cada 10-15 minutos durante 3 horas, dejándose decantar después y filtrando el líquido sobrenadante a través de una placa porosa de vidrio, con un diámetro de poros entre 10-16 μ m. El filtrado recogido, con los gérmenes de bosque (GB), se mezcló con serrín correspondiente a mezcla de las especies *Py-nus sylvestris* y *Fagus sylvatica*, y se dejó durante 48 horas en recipiente abierto, sacándose después con ayuda de una malla para escurrir el agua sin secar totalmente la muestra.

Caja B: 0,85 gramos de madera afectada de pudrición blanca finamente molida, procedente de la mezcla de maderas de diferentes especies coníferas recogidas en los bosques y parques de los alrededores de la Ftad. de Cc. Químicas de la U.C..

A los tres días de realizadas las siembras resultaba fácilmente visible la presencia de micelios, en ambas cajas, cubriendo la casi totalidad de la superficie del medio de cultivo.

Por la técnica de siembra y selección en tubos de ensayo se intentaron aclimataciones de estos micelios en medios de cultivo preparados con agar OXOID nº3 y el residuo seco de fracciones LP de concentraciones crecientes, adaptando el pH a 5,5-6,0 con disolución tampón de fosfatos.

Las fracciones LP utilizadas en estos ensayos se prepararon por disolución con NaOH 0,1 N del precipitado obtenido al tratar la lejía negra LN-06 con ácido sulfúrico, el pH de la disolución resultante fué de 8,9.

Después de cinco etapas de aclimatación, a los 35 días, podía observarse la persistencia de micelios procedentes de los cultivos A y B que se habían desarrollado utilizando las fracciones LP como única fuente de carbono.

Examinados los micelios obtenidos, pudieron identificarse las siguientes especies de interés:

1) Procedentes del cultivo A: varias especies de mohos de los tipos *Aspergillus* y *Penicillium*, y un hongo superior con micelio de aspecto algodonoso y color blanco.

2) Procedentes del cultivo B: tres hongos superiores diferentes denominados H-1, H-2 y H-3 al no resultar posible una confirmación exacta de las especies correspondientes.

Las características apreciadas en estos hongos fueron:

- a) Hongo H-1: al igual que el procedente del cultivo A, su micelio era de aspecto algodonoso y de color blanco. Las hifas del micelio, que presentaban bastantes fíbulas, estaban agrupadas en haces radiales y apoyadas unas sobre otras sin fusionarse.
- b) Hongo H-2: el micelio primario era claro, oscureciéndose a medida que se producía el desarrollo del hongo hasta tomar un tono gris oscuro.

Siguído al microscopio, el desarrollo de este hongo, se observó la formación de unos micelios primarios claros y tabicados que posteriormente se fusionaron originando rizomorfos.

- c) Hongo H-3: de aspecto pulverulento y color pardo claro. Su micelio primario era de hifas cortas y delgadas, produciéndose rizomorfos rápidamente. Su crecimiento era mas lento que los hongos H-1 y H-2.

Los tres tipos de hongos citados se sembraron sobre porciones de un medio de cultivo preparado con agar OXOID n°3, tamponado a pH = 6 con fosfatos, y residuo seco del precipitado lignínico de la LN-06 al 1% en peso.

Se determinaron los espectrogramas UV de las fracciones LP después de tratadas con cada uno de los tres tipos de cultivos preparados, durante 13 días, así como el del medio de cultivo inicial. En la Figura 5.31 se representan los resultados obtenidos.

La dificultad que presentaba el poder obtener los referidos espectrogramas por el sistema convencional, que requiere muestras líquidas y un blanco de referencia, se resolvió de la forma siguiente:

Cada muestra se calentó en baño de aceite, lentamente, hasta 85°C quedando fundida, y sobrenadando los hongos. Con una jeringa se recogió, del fondo, una porción que se introdujo en el espectrofotómetro procediéndose a un barrido en transmitancias, desde los 220 hasta 360 nm, en un tiempo de 1,25 minutos, durante el que permanecía fundida la muestra analizada. La cubeta utilizada tenía 5 mm de paso de luz.

El blanco de referencia usado fué el mismo soporte del cultivo (agar OXOID n°3, tamponado con fosfatos a pH = 6) exento del residuo lignínico, con el que se realizó el correspondiente barrido en transmitancias de manera análoga a las muestras anteriores.

Los datos de transmitancias obtenidos se transformaron

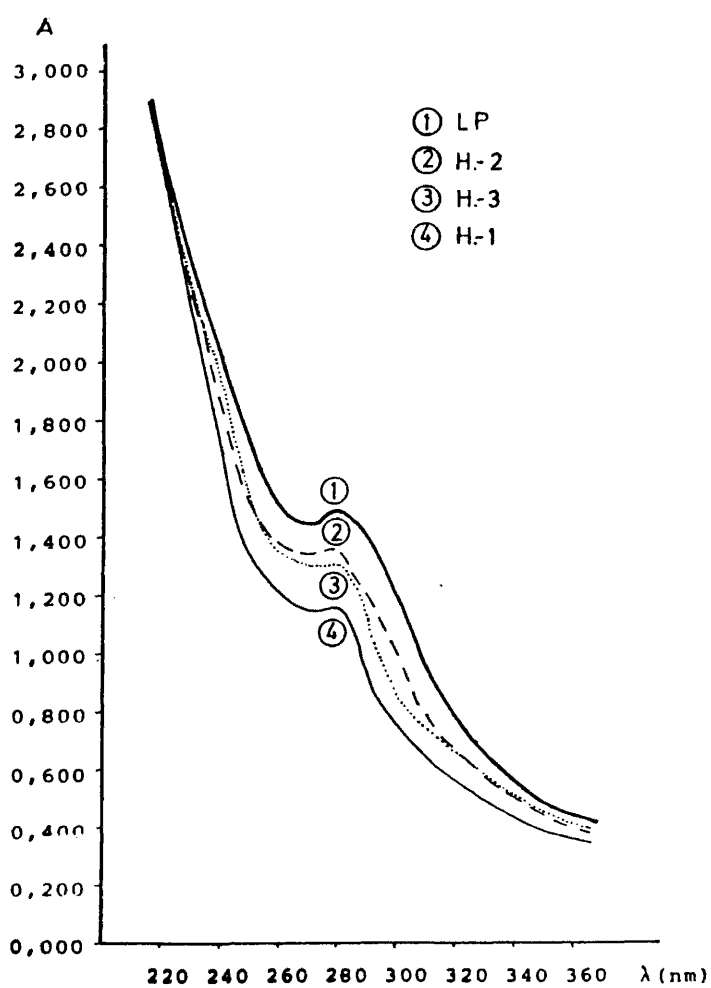


Figura 5.31. Espectros UV de la fracción LP inicial y al cabo de 13 días en contacto con cada uno de los cultivos de hongos utilizados.

a absorbancias aplicando la fórmula:

$$A = \log \frac{T_m}{T_b}$$

donde: A .- absorbancia a una determinada longitud de onda.

T_m .- transmitancia de la muestra a esa misma longitud de onda.

T_b .- transmitancia del blanco de referencia a la misma longitud de onda.

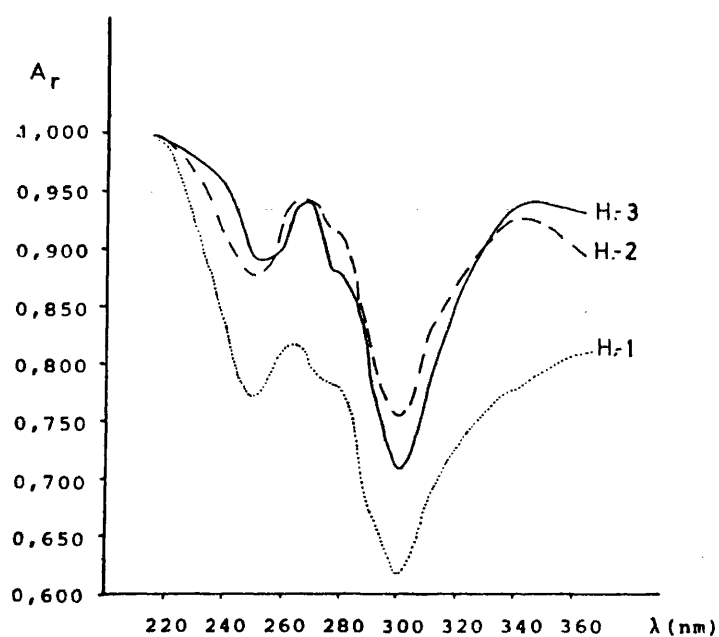


Figura 5.32. Absorbancias relativas de cada una de las muestras tratadas con hongos con respecto a la LP inicial.

Observando las gráficas de la Figura 5.31 se aprecia una importante reducción de absorbancias en todo el intervalo UV próximo, siendo mas acusada para los valores de λ comprendidos entre los 285-320 nm y también entre los 245-260 nm, aunque menor, tal como puede comprobarse en la Figura 5.32 donde se representan las razones de absorbancia, respecto a la fracción LP inicial, de cada una de las muestras estudiadas.

Según se deduce a partir de las reglas de Woodward-Fieser (104), la vainillina presentará una $\lambda_{\text{máx.}}$ próxima a los 317 nm, el guayacol y el o-difenol a los 268 nm apareciendo además una banda de absorción B (prohibida) entre los 240-290 nm que oscurecerá a la de $\lambda = 268$ nm. Por tanto, hay que aceptar la posibilidad de que la biodegradación de ligninas por hongos conduzca a la obtención de vainillina, guayacol y o-difenol; los tres compuestos tienen un peso molecular muy próximo (152 u.m.a., 122 u.m.a. y 110 u.m.a.) y puede suponerse que son los productos aromáticos finales del craqueo oxibiótico de las cadenas de fenilpropanos.

Posteriormente, se llevaron a cabo una segunda tanda de ensayos, encaminados a determinar si ciertos hongos de pudriciones blancas (destructores de ligninas) eran capaces de destruir las ligninas de las lejías negras al sulfato.

Para este propósito se preparó un medio de cultivo, con el precipitado resultante de añadir ácido sulfúrico a la lejía negra LN-07 como única fuente de carbono.

La composición inicial del cultivo fué la siguiente:

Lignina al sulfato: 0,8612 g.
Nitrato amónico: 0,2000 g.
Fosfato potásico mono: 0,2000 g.
Agua: 200,0 ml.
Acido nítrico: 7 gotas (hasta pH = 5)
Agar OXOID nº3: 2,400 g.

La mezcla se gelificó y esterilizó en autoclave de vapor de agua a 2 Kg/cm^2 , durante 30 minutos. Con el caldo, aún fluído, se prepararon medios de cultivo en tubos de ensayo donde se sembraron las especies de hongos siguientes:

- *Trametes versicolor*. Suministrado por el "Centraalbureau voor Schimmelcultures" (Baarn - Holanda). Típico de pudriciones blancas.

- *Sporotrichum pulverulentum*. Misma procedencia que el anterior. Típico de pudriciones blancas.

- *Polyporus evyngii*. Suministrado por el Departamento de "Patología forestal" de la E.T.S.I. Montes (Madrid). Este hongo es más típico de pudriciones pardas, apareciendo en pudriciones blancas acompañadas de pudriciones pardas (pudriciones mixtas).

En primer lugar se observó el crecimiento de los hongos empleados a lo largo de dos semanas con las disoluciones de lignina antes indicadas. La Tabla V.12 recoge los resultados obtenidos.

Tabla V.12

| Desarrollo de hongos con lignina al sulfato como única fuente de carbono | | | | | |
|---|--------------------------------|------------|------------|----------|----------|
| Especie | Diámetro medio de la cepa (mm) | | | | |
| | Inicial | 4 días | 8 días | 11 días | 14 días |
| T.vers. | 7 3 | 7 4 | 7,5 4,5 | 7,5 5 | 8 5,5 |
| S.pulv. | 4 4 | 4,5 4,5 | 5 4,5 | 6 5 | 7 5,5 |
| P.evyn. | 5 5 | 6,5 7 | 7,5 7,5 | 9 7,5 | 9 7,5 |

Los resultados recogidos en la Tabla V.12 muestran, en todos los casos, un crecimiento significativo de los hongos ensayados con los componentes lignínicos del medio de cultivo empleado, como fuente exclusiva de carbono para su desarrollo.

Posteriormente se determinó la variación del índice de metoxilos de las muestras ensayadas, después de permanecer 14 días en contacto con cada uno de los hongos utilizados, con respecto al cultivo inicial. La Tabla V.13 recoge los resultados obtenidos.

Puede suponerse, por tanto, que la fracción lignínica es biodegradable por ciertos organismos específicos capaces de producir las enzimas correspondientes (hadromasas) que actúan sobre la lignina. La existencia de un sustrato que sirva como alimento a cada especie es condicionante de su supervivencia, y ante la modificación o consumo del mismo es obligada su adaptación o sobreviene la muerte (109-111).

Tabla V.13

| Variación del Índice de Metoxilo de la lignina al sulfato durante el desarrollo de hongos. | | | | |
|--|-----------------|--------------------|-----------|-----------|
| | Cultivo inicial | Después de 14 días | | |
| | | T.versic. | S.pulver. | P.evyngii |
| MeO- (%) | | | | |
| 1 ^a det. | 0,0309 | 0,0275 | 0,0272 | 0,0275 |
| 2 ^a det. | 0,0312 | 0,0279 | 0,0272 | 0,0300 |
| 3 ^a det. | 0,0308 | 0,0270 | 0,0264 | 0,0265 |
| 4 ^a det. | 0,0310 | 0,0276 | 0,0272 | 0,0276 |
| Media | 0,0310 | 0,0275 | 0,0270 | 0,0279 |
| Desviac. típica | 0,0001 | 0,0003 | 0,0004 | 0,0015 |
| Reducción media (%) | | 11,29 | 12,90 | 10,00 |

A la vista de la reducción conseguida en el índice de metoxilos cabe pensar que la destrucción de la lignina conduzca a la consecución de productos carboxilados, probablemente ácidos p-hidroxibenzoico, 3-4-dihidroxibenzoico (protocatechuico) y p-hidroxibenzaldehído y p-cumaraldehído, como indican Kirk, Gottlieb y Pelczar (107).

VI. CONCLUSIONES

1°) Se ha comprobado que las lejías negras procedentes de la cocción de la madera por el procedimiento al sulfato contienen en disolución, junto a los iones provenientes de los reactivos, la mayor parte de los componentes de la madera, pero los no celulósicos aparecen afectados por profundas modificaciones estructurales sufridas durante el proceso de cocción.

2°) La solubilización de la lignina, durante la cocción de la madera con hidróxido sódico y sulfuro sódico, conduce a la formación de la denominada *tiolignina*, probablemente a través de un mecanismo por el que se producen tioles, disulfuros y sulfuros, como paso intermedio, los que evolucionan a formas oxidadas (sulfóxidos, sulfonas y ácidos sulfónicos), que, a su vez, originan los correspondientes compuestos carbonílicos sin formación de componentes lignínicos finales con grupos tiol.

3°) En la primera etapa del tratamiento analizado -adición de ácido sulfúrico- se produce una ruptura del polímero de tiolignina, y la floculación de las macromoléculas presentes, al rebasarse su punto isoelectrico, mientras las más ligeras permanecen en disolución. La floculación apenas afecta a la fracción hemiceulósica presente, salvo la pequeña proporción de com

puestos de masa molecular más elevada que retienen los flóculos lignínicos originales, por adsorción.

4°) En la segunda etapa -tratamiento subsiguiente de adsorción, con carbón activo- se eliminan muchos de los componentes celulósicos y la casi totalidad de los componentes de naturaleza lignínica, de modo que el efluente resultante contiene casi en exclusiva sustancias de naturaleza hemicelulósica con pesos moleculares inferiores a 20.000 u.m.a..

5°) Los componentes celulósicos y hemicelulósicos que resisten a la floculación y la adsorción se pueden degradar posteriormente, por vía oxibiótica, mediante los microorganismos comúnmente presentes en los lodos utilizados a tal efecto y también por aquellos que se encuentran en los sistemas acuáticos naturales.

6°) En cambio, los componentes de naturaleza lignínica, aunque se degradan también por vía microbiológica, lo hacen en mucha menor proporción y de forma más lenta, por ruptura inicial de enlaces éter del polímero lignínico, dando fragmentos de bajo G.P. y monómeros fenilpropánicos; el proceso destructivo continúa con

pérdida de grupos metoxilos, por transformación a hidróxilos fenólicos (hidrolasas) u oxidación a carboxilos (carboxilasas).

7°) Hemos encontrado macroorganismos saprófitos capaces de asimilar en grado importante la lignina disuelta en las lejías. Se trata de especies de hongos superiores, característicos de las pudriciones blancas de la madera, cuya aclimatación al caso resulta posible y también acelerar el proceso destructor de los componentes lignínicos.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

- 1.- OCDE. "La contaminación causada por la industria papelera". Ministerio de Asuntos Exteriores de España. Madrid (1974).
- 2.- JONES, H.R. "Pollution control and chemical recovery in the Pulp and Paper Industry". Noyes Data Corporation. London (1973).
- 3.- ALAVEDRA, P.; VIDAL, T.; COLOM, J.F. *Ingeniería Química*, 8 (91), 135 (1976).
- 4.- DE LORA, F.; MIRO, J. "Técnicas de defensa del medio ambiente". Vol. 2. Labor. Barcelona (1978).
- 5.- VILA, J.; *Ingeniería Química*, 9 (97), 49 (1973).
- 6.- BEBIN, J.; *Pulp and Paper Magazine of Canada*, 71 (10), T-215 (1970).
- 7.- THIRUMURTHI, D.; McKENNA, G.; BOWN, H.G.; *Water Sewage Works*, 116. (12), 491 (1969).
- 8.- CLARKE, J.; DAVIS, M.W. Jr.; *Tappi*, 52 (10), 1923 (1969).
- 9.- ONISHI, A.; *Kami Pa Gikyoshi*, 25 (2), 79 (1971).
- 10.- BUFTON, R.G.; SEMANCIK, J.R.; KING, C.G.; Pat. Alem. n° 2.056.032, 14 Nov. 1969.

- 11.- CALMON, C.; HEIF, A.H.; HELFGOTT, T.; Pat. USA n° 3.699.039
2 Nov. 1970.
- 12.- DAVIS, C.L. Jr.; *Tappi*, 52 (11), 2132 (1969).
- 13.- "Massive Color Removal Sistem Being Constructed by International Paper Company"; *Southern Pulp and Paper Manufacturer*, 32 (4), 26 (1969)
- 14.- SPRUILL, E.L.; *Water and Sewage Works*, 118 (3), 15 (1971).
- 15.- DOBOLYI, E.; *Papírípar*, 14 (2), 39 (1970).
- 16.- KEMMER, F.; Pat. USA n° 3.578.587, 5 Ene. 1970.
- 17.- MOLDER, H.; PADIL, T.; TEPAKS, L.; Pat. URSS n° 258.932,
26, Feb. 1969.
- 18.- OLIN, J.H.; *Paper Trade Journal*, 153 (31), 30 (1969).
- 19.- BERGER, H.F.; *Tappi*, 49 (8), 78 A (1966).
- 20.- McGLASSON, W.C.; THIBODEAUX, L.J.; BERGER, H.F.; *Tappi* 49
(12) 521 (1966).
- 21.- RUZICODA, D.; *Pap. Cellul.*, 25 (5), 148 (1970).
- 22.- BEDER, H.; GILLESPIE, W.J.; *Tappi*, 53 (5), 883 (1970).
- 23.- VIAN, A.; RODRIGUEZ, J.; ANSALDO, J.; "Una solución al vertido de aguas residuales de las industrias pastero-papeleras".
Cátedra de Química Industrial, Univ. Complutense de Madrid
(1971).

- 24.- RODRIGUEZ JIMENEZ, J.J.; "Un nuevo método de tratamiento para las aguas residuales de fábricas de pasta al sulfato". Tesis doctoral, Universidad Complutense de Madrid (1977).
- 25.- VIAN, A.; RODRIGUEZ, J.J.; *Investigación y Técnica del Papel*, 15 (58), 954 (1978).
- 26.- VIAN, A.; TIJERO, J.; RODRIGUEZ, J.; RODRIGUEZ, J.J.; *Investigación y Técnica del Papel*, 17 (63), 148 (1980).
- 27.- SWARTZ, J.N.; McDONALD, R.C. en C. Earl Libby ed. "Ciencia y Tecnología sobre Pulpa y Papel". Tomo I. Cap. 9, p. 210. CECSA, México (1967).
- 28.- BRINK, D.L.; HOSSFELD, R.L.; SANDSTROM, W.M.; *Journal of American Chemistry Society*, 71 (6) 2275 (1949).
- 29.- PEARL, J.A.; BEYER, D.L.; JOHNSON, B.; WILKINSON, S; *Tappi*, 40 (5), 374 (1957).
- 30.- SOBOLEV, I.; SCHUERCH, C.; *Tappi*, 41 (8), 447 (1958).
- 31.- KHOLK'IN, Y.I.; "Chromatography in Wood Chemistry", Ed. Prof. V.I. Sarkov. Israel Program for Scientific Translation. Jerusalem (1969).
- 32.- ENKVIST, T.; MOILANEN, M.; *Svensk Papperstidning*, 55 (i), 668 (1952).
- 33.- BARBADILLO, P.; "Las hemicelulosas y su influencia en el proceso de fabricación del papel". Boletín de Investigación y Técnica del Papel. 23 (Enero) (1970).

- 34.- HAMILTON, J.K.; PARTLOW, E.V.; THOMPSON, N.S.; *Tappi*, 41 (12), 803 (1958).
- 35.- GREEN, J.W.; *Tappi*, 39 (7), 472 (1956).
- 36.- CROON, I.; ENSTRÖM, B.F.; *Tappi*, 44 (12), 870 (1961).
- 37.- FORSS, K.; FREMER, K.E.; *Tappi*, 47 (8), 485 (1964).
- 38.- OLSON, J.E.; SAMUELSON, O.; *Svensk Papperstidning*, 68 (6), 179 (1965).
- 39.- YORSTON, F.H.; *Pulp and Pap. Mag. of Canada*, 63 (c), T-102 (1962).
- 40.- JENSEN, W.; FREMER, K.E.; FORSS, K.; *Tappi*, 45 (2), 122 (1962).
- 41.- DE PEDRO, J.L.; *Ingeniería Química*, 6 (61), 89 (1974).
- 42.- KOLLMAN, F.; "Tecnología de la Madera y sus Aplicaciones" Tomo I. Instituto Forestal de Investigaciones y Experiencias y Servicio de la Madera. Madrid (1959).
- 43.- ISENBERG, I.H.; referencia 27, Cap. 2, p. 39.
- 44.- HENSER, E.; "Cellulose Chemistry". J. Wiley & sons, Inc. New York (1944).
- 45.- WISE, L.E.; LAUER, K.H.; referencia 27. Cap. 3, p. 79.
- 46.- VIAN, A.; "Curso de Introducción a la Química Industrial". Cap. 15. Ed. Alhambra. Madrid (1976).

- 47.- WISE, L.E.; referencia 27, Cap. 4, p. 175.
- 48.- HAGGLUND, E.; "Chemistry of Wood". Academic Press. New York (1951).
- 49.- BRAUNS, F.E.; BRAUNS, D.A.; "The Chemistry of Lignine". Suppl. vol. Academic Press, Inc. New York (1961).
- 50.- PEARL, I.A.; *Chemical Eng. News*, 42 (6), 81 (1964).
- 51.- GLENNIE, D.W.; MCCARTHY; referencia 27, Cap. 5, p. 113.
- 52.- FORSS, K.; FREMER, K.E.; STENLUND, B.; *Paper och Trä*, 48 (11), 565 (1966).
- 53.- FORSS, K.; FREMER, K.E.; STENLUND, B.; *Paper och Trä*, 48 (11), 669 (1966).
- 54.- BAILEY, A. *Journal Am. Chem. Soc.*, 73 (5), 2325 (1951).
- 55.- Norma TAPPI T 13 OS-54.
- 56.- MEREWETHER, J.W.T.; *Tappi*, 45 (2), 159 (1962)
- 57.- BERL - LUNGE - D'ANS. "Métodos de Análisis Químico Industrial". Tomo V., p. 530. Ed. Labor. Barcelona (1948).
- 58.- GIERER, J.; *Svensk Papperstidning Årg*, 73 (18), 571 (1970)
- 59.- FIELD, L.; DRUMMOND, P.E.; RIGGINS, P.H.; JONES, E.A.; *Tappi*, 41 (13), 721 (1958).
- 60.- Norma UNE 57 039

- 61.- RIANDE, E.; PERENA, J.M.; *Journal Macromol. Sci.-Chem.*,
A 8 (8), 1413 (1974).
- 62.- ALFREDSSON, B.; LENNART, G.; SAMUELSON, O.; *Svensk Papp.*
Åtg., 63 (21), 758 (1960).
- 63.- Norma UNe 57 034
- 64.- RYDHOLM, S.A.; "Pulping Processes". Interscience. New York
(1965).
- 65.- SAVIDAN, L.; "La Chromatographie". Ed. Dunod. París (1963).
- 66.- ABBOTT, D.; ANDREWS, R.S.; "Introducción a la Cromatogra-
fía". Ed. Alhambra. Madrid (1973).
- 67.- HADDEN, N. y col.; "Basic Liquid Chromatography". Ed. Va-
rian Aerograph. EE.UU. (1971).
- 68.- ROTHSTEIN, F.; *Journal of Chromatography*, 18, 36 (1965).
- 69.- KALASZ, H.; KNOLL, J.; *The LKB instrument journal*, 20
(1), 15 (1973).
- 70.- BEREK, D.; BAKOS, D.; *J. Chrom.*, 91, 237 (1974).
- 71.- EMNEUS, N.I.A. *J. Chrom.*, 32, 243 (1968).
- 72.- SCOTT, P.W.; KUCERA, P. *Analytical Chemistry*, 45 (4),
237 (1973).
- 73.- KIRKLAND, J.J.; *Journal of Chromatography Science*, 7, 7
(1969).

- 74.- ÖBRINK, B.; LAURENT, T.C.; RIGLER, R.; *J. Chromatog.*, 31, 48 (1967).
- 75.- MASSART, D.L.; JANSSENS, C.; KAUFMAN, L.; SIMITS, R.; *Anal. Chemistry*, 44 (14), 2390 (1972).
- 76.- SCOTT, R.P.V.; *J. Chromatog.*, 122, 35 (1976).
- 77.- JANSON, J.C.; *J. Chromatog.*, 28, 12 (1967).
- 78.- TIJSSSENS, R.; BILLET, H.A.H.; SCHOENMAKERS, P.J.; *J. Chromatog.*, 122, 185 (1976).
- 79.- BROOK, A.J.W.; MUNDAY, K.C.; *J. Chromatog.*, 47, 1 (1970).
- 80.- PORATH, J.; FLODIN, P.; *Nature*, 183, 1657 (1959).
- 81.- JOUSTRA, M.; SODUQUIST, B.; FISCHER, L.; *J. Chromatog.*
- 82.- FISCHER, L.; "An Introduction to Gel Chromatography", 5^a éd., Ed. T.S. Work & E. Work. Amsterdam (1974).
- 83.- KUNDUN, E.; MAENZAF, E.; *Naturwissenschaften*, 57 (11), 544 (1970).
- 84.- "Gel Filtration. Theory and Practice". Catalogo de Pharmacia Fine Chemicals. Uppsala (1973).
- 85.- "Sephadex Ion Exchangers". Cat. Pharmacia Fine Chemicals. Uppsala (1973).
- 86.- BROWN, W.; FALKEHAG, S.I.; COWLING, E.B.; *Nature*, 214 (22) 410 (1967).

- 87.- McNAUGHTON, J.G.; YEAN, W.Q.; GORING, D.A.I.; *Tappi*, 50 (11), 548 (1967).
- 88.- SCHWARZ, J.C.P.; "Métodos Físicos en Química Orgánica" Ed. Acribia. Zaragoza (1968).
- 89.- BRAND, J.C.D.; SPEAKMAN, J.C.; "Molecular Structure. The Physical Approach". Ed. Arnold. London (1960).
- 90.- RAO, C.N. "Espectroscopía Ultravioleta y Visible". Ed. Alhambra S.A., Col. Exedra N° 65. Madrid (1970).
- 91.- MEITES, L. "Handbook of Analytical Chemistry". Ed. McGraw-Hill, Inc. New York (1963).
- 92.- C.R.C. "Handbook of Tables for Organic Compound Identification". 3^a ed., C.R.C. Press, Inc., Cleveland (1967).
- 93.- C.R.C. "Handbook of Chemistry and Physics". 57^a ed., C.R.C. Press, Inc., Cleveland (1976).
- 94.- FEIGL, F.; "Spot Tests in Organic Analysis". 7th ed. Elsevier. New York (1966).
- 95.- Norma ASTM - D - 1166.
- 96.- O.M.S. "Normas Internacionales para el Agua Potable". Ed. O.M.S. Ginebra (1974).
- 97.- MOORE y col. *Analytical Chemistry*, 23, 1297 (1951).
- 98.- ANDREWS, W.A.; MOORE, D.K.; LE ROY, A.C.; "A guide to the Study of Environmental Pollution". Prentice-Hall of Canada. Scarborough (1972).

- 99.- FAIR, G.M.; GEYER, J.C.; OKUN, D.A.; "Water and Wastewater Engineering". Vol. 2; John Wiley ed. New York (1977).
- 100.- O.M.S. "Normas Internacionales para el Agua Potable", Organización Mundial de la Salud. Ginebra (1962).
- 101.- HISER, L.L.; BUSCH, A.W.; *Journal of W.P.C.F.*, 36 (4), 505 (1964).
- 102.- TOOL, H.R.; *Water and Sewage Works*, 114 (6), 211 (1967).
- 103.- The American Water Works Association, Inc. "Water Quality and Treatment". Ed. McGraw-Hill, New York (1971).
- 104.- ALLINGER, N. L., y col. "Química Orgánica". Ed. Reverté. Barcelona (1973).
- 105.- VIAN, A. ; RODRIGUEZ, J.J.; *Afinidad*, 35 (357), 482 (1978).
- 106.- WOODARD, F.E.; SPROUL, O.J.; ATKINS, P.F. Jr.; *Journal W.P.C.F.*, 36 (11), 1401 (1964).
- 107.- LIESE, W. "Biological Transformation of Wood by Microorganisms". Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg/New York (1975).
- 108.- FERM, R.; NILSSON, A.C.; *Svensk Papperstidning Årg.*, Nr 15 (17), 531 (1969).
- 109.- ALVARADO, S.; "Biología General". Tomo I, 9^a ed. AGESA Madrid (1969).
- 110.- BAILEY, J.E.; OLLIS, D.F.; "Biochemical Engineering Fundamentals". McGraw-Hill, Inc., New York (1977).

- 111.- FALK, K.G.; "The Chemistry of Enzyme Actions". The Chemical Catalog Company Inc., New York (1921).



BIBLIOTECA